

909

FACULTÉ de MÉDECINE de PARIS

Année 1962

N°

THÈSE
pour le
DOCTORAT en MÉDECINE
(Diplôme d'État)

par

Henri, Gustave, Léon CHOISY

Pharmacien

Ancien Interne, Médaille d'Or des Hôpitaux de Paris
né le 18 Octobre 1930 à Bagneux-la-Fosse (Aube)

présentée et soutenue publiquement le 22 Juin 1962

CONTRIBUTION à l'ÉTUDE PHARMACOLOGIQUE
de QUATRE ESTERS PHOSPHORIQUES
du PARANITROPHÉNYLE

Président : Monsieur Jean CHEYMOL, Professeur

INSTITUT de PHARMACOLOGIE de la FACULTÉ de MÉDECINE de PARIS

P A R I S
IMPRIMERIE DE LA VIEILLE ALSACE

1962

FACULTÉ de MÉDECINE de PARIS

Année 1962

N°

THÈSE
pour le
DOCTORAT en MÉDECINE

(Diplôme d'État)

par

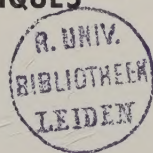
Henri, Gustave, Léon CHOISY

Pharmacien

Ancien Interne, Médaille d'Or des Hôpitaux de Paris
né le 18 Octobre 1930 à Bagnoux-la-Fosse (Aube)

présentée et soutenue publiquement le 22 Juin 1962

CONTRIBUTION à l'ÉTUDE PHARMACOLOGIQUE
de QUATRE ESTERS PHOSPHORIQUES
du PARANITROPHÉNYLE



Président : Monsieur Jean CHEYMOL, Professeur

INSTITUT de PHARMACOLOGIE de la FACULTÉ de MÉDECINE de PARIS

P A R I S
IMPRIMERIE DE LA VIEILLE ALSACE

1962

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. ALAJOUANINE (T.), AUBIN (A.), BÉNARD (H.), BULLIARD (H.), CADENAT (F.), CHABROL (E.), CHAMPY (C.), DEBRÉ (R.), FEY (B.), GASTINEL (P.), HALPHEN (E.), HAZARD (R.), HEUYER (G.), LANTUEJOL (P.), LAROCHE (G.), LÉVY-SOLAL (E.), LIAN (C.), MATHIEU (P.), MOCQUOT (P.), MONDOR (H.), MONOD (R.), MOREAU (R.), MOULONGUET (P.), OLIVIER (E.), PASTEUR VALLERY-RADOT, PETIT-DUTAILLIS (D.), QUÉNU (J.), RICHTER (C.), SÉNÈQUE (J.), STROHL (A.), TANON (L.).

Doyen..... Léon BINET
Membre de l'Institut

1^{er} Assesseur..... Jean VERNE

2^e Assesseur..... Gaston CORDIER

I. PROFESSEURS

1^o CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

a) Professeurs titulaires :

Anatomie	DELMAS (A.).
Anatomie pathologique	DELARUE (J.).
Anesthésiologie	BAUMANN (J.).
Biochimie médicale	JAYLE (M. F.), SCHAPIRA (G.).
Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports	CHAILLEY-BERT (P.).
Biologie médicale	FAUVERT (R.).
Cancérologie médicale et sociale	BERNARD (J.).
Embryologie	GIROUD (A.).
Histoire de la médecine et de la chirurgie (Lariboisière)	N***
Histologie	VERNE (J.).
Hygiène et médecine préventive	JOANNON (P.).
Médecine du Travail	DESOLLE (H.).
Médecine légale	PIEDELIEVRE (R.).
Microbiologie (bactériologie et virologie)	FASQUELLE (R.).
Parasitologie	GALLIARD (H.).
Pathologie chirurgicale	HUGUIER (J.).
Pathologie exotique	LAVIER (G.).
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F. P.).
Pathologie médicale	MILLIEZ (P.).
Pathologie respiratoire	TURIAF (J.).
Pathologie et thérapeutique générales	BOUDIN (G.).
Pharmacologie	CHEYMOL (J.).
Physiologie	BINET (L.), BARGETON (D.).
Physiologie et pathologie obstétricale	LEPAGE (F.).
Physique médicale	DOGNON (A.), DJOURNO (A.).
Radiologie médicale	DESGREZ (H.).

Technique chirurgicale et chirurgie expérimentale.
Thérapeutique

N***
CONTE (M.).

b) *Professeurs à titre personnel :*

Biochimie médicale
Biologie médicale
Embryologie.....
Hygiène et médecine préventive.....
Parasitologie.....
Pathologie chirurgicale.....
Pharmacologie
Physiologie.....
Physique médicale

DESGREZ (P.), POLONOVSKI (J.).
BOURLIÈRE (F.).
TUCHMANN (H.).
DEPARIS (M.).
BRUMPT (L. C.).
LAURENCE (G.).
LÉVY (Mlle J.).
PARROT (J.).
KELLERSHOHN (L.).

2^o CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

a) *Professeurs titulaires :*

Clinique carcinologique chirurgicale (Necker)
Clinique cardiologique (Broussais)
Cliniques chirurgicales :

REDON (H.).
MOUQUIN (M.).

Beaujon.....
Cochin.....
Hôtel-Dieu.....
Pitié.....
Saint-Antoine.....
Salpêtrière.....
Tenon.....

LORTAT-JACOB (J. L.).
LÉGER (L.).
PATEL (J.).
CORDIER (G.).
GOSSET (J.).
SICARD (A.).
OLIVIER (C.).

Clinique de chirurgie infantile et orthopédique
(Enfants-Malades).....

FÈVRE (M.).

Clinique chirurgicale orthopédique et réparatrice
(Cochin)

Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais).

MERLE D'AUBIGNÉ (R.).

Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire (Laennec).

GAUDART D'ALLAINES (F. de).

Clinique endocrinologique (Pitié)

MATHEY (J.).

Clinique de génétique médicale (Enfants-Malades).

DECOURT (J.).

Clinique gynécologique (Broca).....

LAMY (M.).

Clinique des maladies cutanées et syphilitiques
(Saint-Louis)

FUNCK-BRENTANO (P.).

Clinique des maladies des enfants (Enfants-Malades).

DEGOS (R.).

Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard).

CATHALA (J.).

Clinique des maladies mentales et de l'encéphale
(Sainte-Anne).....

MOLLARET (P.).

Clinique des maladies métaboliques (Necker)

DELAY (J.).

Clinique des maladies du sang (Broussais).....

HAMBURGER (J.).

Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)

MARCHAL (G.).

Cliniques médicales :

CASTAIGNE (P.).

Boucicaut

LENÈGRE (J.).

Broussais

SOULIE (P.).

Cochin

JUSTIN-BESANÇON (L.).

Cochin

BROUET (G.).

Hôtel-Dieu.....

BARIETY (M.).

Lariboisière

SÈZE (S. de).

Pitié.....

DREYFUS (G.).

Saint-Antoine.....

KOURILSKY (R.).

Clinique médicale d'hydrologie thérapeutique et climatologie (Bichat)
 Clinique médicale propédeutique (Broussais)
 Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition (Hôtel-Dieu)
 Clinique de neuro-chirurgie (Pitié)
 Clinique neurologique (Salpêtrière)
 Cliniques obstétricales :
 Baudelocque
 Foch (Suresnes)
 Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal).
 Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu)
 Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière) ...
 Clinique de pédiatrie et de puériculture (Saint-Vincent-de-Paul)
 Clinique de pédiatrie sociale (Enfants-Malades) ...
 Clinique de pneumo-phtisiologie (Laennec)
 Clinique de neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière).
 Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)
 Clinique stomatologique (Pitié)
 Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard) ...
 Clinique thérapeutique médicale (Saint-Antoine)...
 Clinique toxicologique
 Clinique traumatologique
 Séméiologie médicale
 Séméiologie et clinique chirurgicales
 Clinique urologique (Necker)
 Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau)

b) *Professeurs à titre personnel :*

Médecine

DEBRAY (C.).
 GENNES (L. de).

DEROT (M.).
 DAVID (M.).
 GARCIN (R.).

LACOMME (M.).
 MERGER (R.).
 VARANGOT (J.).
 RENARD (G.).
 AUBRY (M.).

LELONG (M.).
 MARIE (J.).
 BERNARD (E.).
 MICHAUX (L.).
 COSTE (F.).
 DECHAUME (M.).
 ROUX (M.).
 LEMAIRE (A.).
 GAULTIER (M.).
 PADOVANI (P.).
 DOMART (A.).
 POILLEUX (F.).
 COUVELAIRE (R.).

TURPIN (R.).

BOUR (H.), LHERMITTE (F.), PÉQUIGNOT (H.).

II. PROFESSEURS SANS CHAIRE, PROFESSEURS AGRÉGÉS ET MAÎTRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS

Anatomie

Anatomie pathologique

Anesthésiologie

Bactériologie

Biochimie médicale

Biologie appliquée à l'éducation physique et aux sports

Carcinologie

Dermato-syphiligraphie

Electro-radiologie

Hématologie

Histologie

CABROL (C.), COUINAUD (C.), GILLOT (C.), OLIVIER (G.).
 GAUTHIER-VILLARS (Mlle P.) pr. s. ch., ABELANET (R.), BUSSET (F.), CHOMETTE (G.), GOUYGOU (Ch.) m. conf., NEZELOFF (Ch.), ORCEL (L.), PAILLAS (J.).
 KERN (E.), VOURC'H (G.).
 BARBIER (P.), CHRISTOL (D.), LE MINOR (L.), Tournier (P.).
 BAULIEU (Et.) m. conf., BOURILLON (R.), CARTIER (P.), DREYFUS (J. Cl.), GONNARD (P.), KRUH (J.), JÉRÔME (H.).

PLAS (F.).
 BOIRON (M.), DENOIX (P.), MATHÉ (G.), SELIGMANN (M.).
 CIVATTE (J.), DUPERRAT (B.).
 LEDOUX-LEBARD (G.).
 BESSIS (M.), BILSKI-PASQUIER (G.), DAUSSET (J.), DUHAMEL (G.).
 COUJARD (R.) pr. s. ch., MAROIS (M.), RACADOT (J.).

Hydrologie	BESANÇON (F.), CORNET (A.).
Hygiène	BOYER (J.) pr. s. ch., BLANCHER (G.), CORRE-HURST (Mme L.), SAPIN-JALOUSTRE (H.).
Maladies infectieuses	BASTIN (R.), DUPONT (V.).
Médecine légale	DEROBERT (L.) pr. s. ch., FOURNIER (R.), GUÉNIOT (M.), HADENGUE (A.).
Médecine du travail	ALBAHARY (C.).
Neuro-chirurgie	PERTUISSET (B.).
Obstétrique	GRANJON (A.), HERVET (E.), LE LORIER (G.), LÉVY (J.), MORIN (P.), MUSSET (R.), ROBÉY (M.), SÉNÈZE (J.), SUREAU (C.), THOYER-ROZAT (J.).
Ophtalmologie	BRÉGEAT (P.), DUBOIS (A.), SARAUX (H.).
Orthopédie	JUDET (R.), MEARY (R.), POSTEL (M.), RAMADIER (J.).
Oto-rhino-laryngologie	DEBAIN (J.), PIALOUX (P.).
Parasitologie	GOLVAN (Y.), LAPIERRE (J.).
Pathologie chirurgicale	BARCAT (J.), BINET (J.-P.), CAUCHOIX (J.), CERBONNET (G.), CHATELAIN (C. L.), DUBOST (Ch), DUBOST (Cl.), FAUREL (J.), FLABEAU (F.), GARBAY (M.), GARNIER (H.), GAUDART-D'ALLAINES (Cl. de), GERMAIN (A.), LATASTE (J.), LÉVÊQUE (B.), LOYGUE (J.), MERCADIER (M.), NATALI (J.), PELLERIN (D.), PERROTIN (J.), ROBERT (H.), THOMERET (G.).
Pathologie exotique	SCHNEIDER (J.).
Pathologie expérimentale	BENHAMOU (J.-P.), BERTHAUX (P.), BOIVIN (P.), CROSNIER (J.), HARTMANN (L.), LÆPER (J.), MAURICE (J.), MIKOL (Cl.), RICHTER (G.).
Pathologie médicale	AUSSANNAIRE (M.), BOUVIER (J.), BOUVRAIN (Y.), BRICAIRE (H.), BRISSAUD (H.), BROCARD (H.), BUGÉ (A.), CATINAT (J.), CHRÉTIEN (J.), COBLENTZ (B.), CONTAMIN (F.), COURY (C.), ÉTIENNE (J.-P.), FRÉZAL (J.), FRITEL (D.), HENNEQUET (A.), HIMBERT (J.), HOUSSET (E.), LAROCHE (Cl.), LESOBRE (R.), MACREZ (C.), MOREAU (L.), NICK (J.), ROYER (P.), TOURNEUR (R.), WOLFROMM (R.).
Pédiatrie-puériculture	JOSEPH (R.), LAFOURCADE (J.), LEPERQ (G.), MANDE (R.), MOZZICONACCI (P.), POLONOVSKI (C.), ROSSIER (A.), VIALATTE (J.).
Pharmacologie	BOISSIER (J.), LECHAT (P.).
Physiologie	BARRÈS (G.), DEJOURS (P.), DURAND (J.), GIRARD m. conf., HUGELIN (A.), SCHERRER (J.).
Physique médicale	CHANTEUR (J.), GOUGEROT (L.) m. conf., pr. s. ch., GRÉMY (F.) m. conf., MILHAUD (G.), PELLERIN (P.), ROUCAYROL (J.-Cl.), TUBIANA (M.) m. conf.
Pneumo-phtisiologie	KREIS (B.), MEYER (A.), RENAULT (P.).
Psychiatrie	PICHOT (P.).
Psychiatrie infantile	DENIKER (P.), DUCHÉ (D.), FLAVIGNY (H.), LAPRESLE (J.).
Rhumatologie	DELBARRE (F.).
Psychiatrie infantile	CERNÉA (P.), CHAPUT (Mme A.) m. c. agr., GRELLET (M.).
Thérapeutique	CHASSAGNE (P.), LAMOTTE (M.), MARCHE (J.).
Urologie	AUVERT (J.), MOULONGUET (A.), QUÉNU (L.).

III. PROFESSEURS SANS CHAIRE ET AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

(A titre permanent.)

Anatomie	DEBEYRE (J.).
Clinique chirurgicale	ABOULKER (P.), AMFLINE (A.) pr. s. ch., VERNE (J.M.).
Clinique médicale	PERRAULT (M.), RAMBERT (P.), THIEFFRY (S.).
Clinique obstétricale	GRASSET (J.), MAYER (M.).
Clinique ophtalmologique	DESIGNES (P.), OFFRET (G.).
Clinique oto-rhino-laryngologique	MADURO (R.).
Clinique pédiatrique et puériculture	LAPLANE (R.).
Clinique psychiatrique	BARUK (H.).
Clinique urologique	KUSS (R.).

IV. PROFESSEURS DÉTACHÉS DANS LES UNIVERSITÉS ÉTRANGÈRES

Bactériologie	HAUDUROY (P.) pr. s. ch.
Pathologie chirurgicale	RUDLER (J.) pr. s. ch.

V. CHARGÉS DE COURS D'HYGIÈNE SCOLAIRE ET UNIVERSITAIRE

Chargés de cours d'hygiène scolaire et universitaire.	BOLTANSKI (E.), LAUNAY (C.).
Secrétaire général de la Faculté	LÉNA (J.).
Secrétaire principal	CHANTREUIL (Mlle G.).
Conservateur en chef de la bibliothèque	
Conservateur du Musée d'histoire de la médecine.	HAHN (Dr A.).
Conservateur	DUMAITRE (Mlle P.).
Bibliothécaires	CONTET (Mlle J.), FORGET (Mlle F.), LAURENT (Mlle H.), LE NOIR (Mlle G.), QUIÉVREUX (Mlle E.).

Par délibération, en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A Monsieur le Professeur Jean CHEYMOL

Professeur de Pharmacologie à la Faculté de Médecine
de Paris

Membre de l'Académie de Médecine

Pharmacien des Hôpitaux de Paris

Officier de la Légion d'Honneur

*Qui a inspiré le sujet de cette thèse et qui nous
a fait le très grand honneur d'en accepter la
présidence.*

*Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de
notre respectueuse gratitude.*

Je remercie les organiciens qui m'ont confié les substances étudiées et les pharmacologues qui m'ont aidé de leurs conseils. Ce mémoire s'intègre dans l'œuvre collective de l'Institut de Pharmacologie, œuvre à laquelle nous sommes heureux d'apporter une modeste contribution.

A Monsieur le Professeur agrégé P. LECHAT

Professeur agrégé à la Faculté de Médecine de Paris
Pharmacien des Hôpitaux de Paris

*Qui a bien voulu guider nos premiers pas en pharmacologie et
qui nous a toujours conseillé avec la plus aimable bienveillance.
Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance.*

A Monsieur le Professeur agrégé J.-R. BOISSIER

Professeur agrégé à la Faculté de Médecine de Paris
Pharmacien des Hôpitaux de Paris

« *Hommage respectueux* »

A Monsieur le Professeur M. LEULIER

Professeur à l'Ecole de Médecine et de Pharmacie
de Reims
Chevalier de la Légion d'Honneur

*En témoignage de notre vive reconnaissance pour l'enseignement
et les encouragements qu'il nous a toujours prodigués.*

A Monsieur le Docteur Cl. RENAUD

Chef de service à l'hôpital de Gonesse

*Que nous remercions pour la sympathique compréhension qu'il
a bien voulu manifester à notre égard.*

A mes Maîtres de l'Internat en Pharmacie

A Monsieur le Professeur A. GERMAN

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris
Pharmacien-chef de l'Hôpital de la Salpêtrière

*Dont je suis fier d'être l'élève et qui a toujours manifesté à mon égard une attention et une sollicitude toutes paternelles.
Qu'il veuille bien trouver ici le témoignage de notre affectueuse gratitude et de notre respectueux dévouement.*

A Monsieur le Professeur agrégé H. RENAULT

Professeur agrégé à la Faculté de Pharmacie de Paris
Pharmacien-chef de l'hôpital St-Antoine

En respectueux hommage

A Monsieur le Professeur agrégé P. LECHAT

Directeur par interim de la Pharmacie centrale
des Hôpitaux

A Monsieur le Professeur M. MASCRE

Professeur honoraire à la Faculté de Pharmacie
de Paris
Pharmacien honoraire des Hôpitaux de Paris

*En hommage et témoignage de respectueuse reconnaissance pour
l'internat passé sous sa bienveillante autorité.*

A Monsieur Alain LEMONNIER

Chef de travaux pratiques à la Faculté de Pharmacie
de Paris
Pharmacien des Hôpitaux de Paris

En témoignage de mon amitié

A mes parents,

A mon cousin Robert LECORCHET

Pharmacien, Licencié ès-sciences

*Qui a orienté ma carrière vers les disciplines scientifiques.
En témoignage de mon affectueux attachement.*

MEIS et AMICIS

Ce travail a été grandement facilité par l'esprit de bonne camaraderie qui règne à l'intérieur de l'Institut de Pharmacologie; nous tenons à remercier ici tous ceux qui nous ont guidé et conseillé pour mener à bien cette thèse.

Chapitre I

INTRODUCTION

I - HISTORIQUE

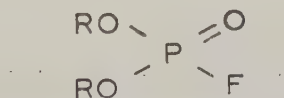
II - GÉNÉRALITÉS

I — HISTORIQUE

Nous rappellerons très brièvement les principales étapes de la chimie et de la pharmacologie des composés organophosphorés.

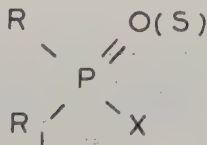
L'étude des composés organiques du phosphore a commencé il y a plus de cent ans, et c'est en France qu'elle a pris son essor. C'est dans le laboratoire de WURTZ que MOSCHNIN, vers 1850 prépara le premier organophosphoré : le pyrophosphate de tétraéthyle (T.E.P.P.).

La publication, en 1932, par LANGE et KRUEGER [77] de la synthèse des esters méthyl et éthylfluorophosphoriques peut être considérée comme point de départ des importantes recherches pratiquées depuis cette date sur ces composés. Ces auteurs donnaient déjà quelques indications sur les propriétés pharmacologiques de ces composés de formule générale :



SCHRADER en Allemagne, dès 1935 [107] entreprit la recherche d'insecticides synthétiques doués d'une grande activité. En même temps Mc CUMBIE et SAUNDERS [84] en Angleterre, dès 1941, préparèrent des esters organophosphorés et mirent en évidence certaines de leurs propriétés physiologiques.

Depuis 1944, de nombreux composés ont été synthétisés par SCHRADER et ses collaborateurs, ayant une structure schématique représentée par :



R et **R₁** sont égaux ou différents
= alkyl, alkoxy, alkylamine
X = acyle : reste acide (minéral ou organique), ou un halogène, ou bien le radical CN ou tout autre composé de caractère acide.

La structure des phosphoramides n'est pas figurée ici, car elle n'a pas de rapport direct avec la série étudiée.

Ces composés, utilisés comme insecticides, trouvèrent quelques applications thérapeutiques. C'est le cas du Mintacol [2072] appelé encore E.600 dont nous reparlerons à propos de l'action myotique de ce corps.

Un nombre impressionnant de travaux depuis 15 ans, sur ces composés a permis de mieux connaître la physiologie du système nerveux et celle de la transmission nerveuse.

SCHAUMANN [104] en prenant l'exemple de l'intoxication par le Parathion et son traitement, analyse clairement l'ensemble des phénomènes d'ordre parasymphomimétique qui mettent en évidence l'action cholinergique des organophosphorés.

De très nombreuses mises au point ont été faites sur les organophosphorés. Nous avons relevé, dans l'ordre chronologique, les principales :

- KOELLE et GILMAN, 1949 [74] traitant des médicaments anti-cholinestérasiques dans leur ensemble
- WILSON, 1954 [119]
- AUGUSTINSSON, 1954 [10]
- ALDRIDGE, 1956 [6]
- DELGA, 1957 [30]
- RASUMOV, 1957 [101]
- HOLMSTEDT, 1959 [59]
- ALDRIDGE, 1959 [5]
- KISIELINSKY et LYSZCZARZ, 1959 [70]
- CIMA, 1959 [26]
- ROSIVAL, VRBOVSKY, et SELECKY, 1959 [102]
- THOMAS, 1960 [116]
- GOLIKOV et ROSENGART, 1960 [40]
- LOHS, 1960 [83]

L'importance des travaux de recherches industrielles dans le domaine des organophosphorés est considérable. D'après un spécialiste de la question, on peut évaluer à 1 ou 2 par semaine, le nombre de composés nouveaux synthétisés.

Intérêt thérapeutique

MIKHELSON [93] et RASUMOV [101] ont souligné le grand intérêt qu'ils attribuent aux composés organophosphorés anti-cholinestérasiques en thérapeutique humaine. Les deux auteurs indiquent la direction des recherches qui leur paraissent

souhaitables et possibles. Les grandes lignes ainsi dégagées sont les suivantes :

- 1) en ophtalmologie : glaucome
- 2) en psychiatrie : stimulation de l'activité nerveuse des malades
 - exploration de l'activité cérébrale
 - analyse des fonctions du système nerveux
- 3) atonie et parésie intestinale
- 4) action ocytocique
- 5) stimulation de l'activité physique et psychique en cas d'asthénie
- 6) chimiothérapie de la tuberculose et du cancer par action sélective sur les aliestérase, inhibées elles aussi par certains composés organophosphorés.

Toutefois, comme le soulignent également les auteurs russes, des recherches longues et difficiles seront encore à effectuer avant de trouver des composés appropriés à ces divers usages cliniques.

II — GÉNÉRALITÉS

Notre étude se place dans le cadre des anticholinestérasiques organophosphorés, et plus particulièrement dans l'exploration de la structure moléculaire et de l'activité pharmacodynamique des corps de cette série.

Les agents anti-cholinestérasiques constituent une classe de drogues pour laquelle on a défini un mécanisme d'action sous le terme d'inhibition d'un enzyme spécifique.

Le premier anti-cholinestérasique connu fut l'ésérine, ou physostigmine, alcaloïde de la Fève de Calabar employée par les sorciers des bords du Niger comme poison d'épreuve. D'ailleurs l'anti-cholinestérasique le plus connu fut découvert bien avant les cholinestérasiques et même avant la mise en évidence dans l'organisme des esters de la choline.

Si la cholinestérase était d'intérêt purement théorique jusqu'à la seconde guerre mondiale, l'arrivée des composés organophosphorés, agents anti-cholinestérasiques, a donné un regain d'intérêt pour la cholinestérase qui s'est avérée du même coup avoir une importance pratique considérable.

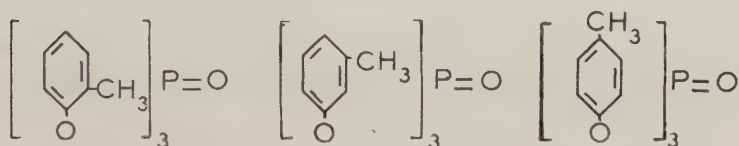
En effet, les déterminations de cholinestérasiques (activité cholinestérasique) intéressent la salubrité industrielle au cours de la synthèse de ces composés et de l'utilisation de ces produits très diffusés comme insecticides pour la protection des récoltes, D'autre part, ces composés se sont révélés une arme chimique intéressant au premier plan la Défense Nationale.

Il est certainement très important de pouvoir connaître en détail l'activité pharmacologique des composés organophosphorés, bien que cette étude semble, à priori, très théorique. Cette étude se justifie par le bénéfice qu'elle peut apporter dans la connaissance détaillée de l'activité pharmacodynamique de l'un quelconque de ces corps.

Il suffit de penser au tricrésylphosphate, composé célèbre depuis la fin du siècle dernier, où des cas de paralysie des

membres avaient été signalés au cours du traitement de la tuberculose par le "phosphate de créosote".

En 1930, en Amérique, 15.000 personnes ont été atteintes de troubles moteurs analogues, plus ou moins graves selon les cas, et consécutifs à l'ingestion d'une eau de vie de gingembre frelatée. SMITH et coll. [109, 110, 111] ont pu déceler dans la boisson la présence du tricrésylphosphate et montrer que, parmi les trois esters isomères :



(I) o.o.o.T.C.P. (II) m.m.m.T.C.P. (III) p.p.p.T.C.P.

seul l'ester tri-orthocrésylphosphorique (I) était doué d'une activité neurotoxique importante.

HENSCHLER [52,53,54] a trouvé que le tri-orthocrésylphosphate, préparé à partir de l'orthocrésol pur, était moins toxique que l'ester obtenu à partir du crésol brut. Dans ce dernier cas, le mélange réactionnel contiendrait en dehors des composés I,II,III, des esters tricrésylphosphoriques mixtes formés à partir de différents isomères. Sept triesters ont été isolés et étudiés. Les composés les plus fortement neurotoxiques sont ceux contenant un seul groupement ortho-crésyl.

D'ailleurs HENSCHLER a pu montrer l'action antidote du P.A.D. (Pyridine-2-aldoxime-dodécyl iodure) pour les cas de paralysies provoquées par le trycrésylphosphate.

Le tricrésylphosphate a fait encore parler de lui plus récemment au cours d'une toxi-épidémie de polynévrites dues à l'ingestion d'huiles frelatées, causant au Maroc plus de 10.000 victimes en septembre et octobre 1959.

Il est évidemment très intéressant de connaître en détail l'activité pharmacologique de ces quatre composés organophosphorés faisant partie de la liste impressionnante des composés organiques du phosphore, qu'il serait fastidieux de dresser en entier.

D'ailleurs, l'utilisation de ces composés comme insecticides justifie l'étude de leur activité, ainsi le 2072 H.C. est un métabolite, comme nous le verrons, du Parathion, produit très largement utilisé, à l'heure actuelle, en agriculture.

Nous plaçant à un autre point de vue, celui de la structure chimique, nous avons dans cette série un exemple de plus montrant l'importance de l'augmentation du nombre d'atomes de carbone sur un radical.

Il y a ici remplacement des radicaux méthyle du 2070 par des éthyles du 2072, sur un support moléculaire commun.

De même, la dissymétrie des radicaux substituants comme dans le 2071, fait varier l'activité, alors que le remplacement du paranitrophényl par le paranitrobenzyl va modifier encore cette activité.

Les organophosphorés en général ont permis de faire des progrès dans le mécanisme du fonctionnement physiologique du système nerveux.

Chapitre II

I - PHYSICO-CHIMIE

A - CONSTITUTION

B - PRÉPARATION

C - CARACTÈRES PHYSICO-CHIMIQUES

- 1) Constantes physiques
- 2) Solubilité
- 3) Stabilité

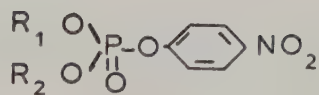
II - METABOLISME

PHYSICO-CHIMIE

A = **Constitution** des corps de la série étudiée :

Numéro conventionnel	Formule	Poids moléculaire
2070 H.C.	$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{O} \\ \diagup \\ \text{P}-\text{O}-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2 \\ \diagdown \\ \text{CH}_3\text{O} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	247,143
2070 bis H.C.	$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{O} \\ \diagup \\ \text{P}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2 \\ \diagdown \\ \text{CH}_3\text{O} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	241,169
2071 H.C.	$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{O} \\ \diagup \\ \text{P}-\text{O}-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2 \\ \diagdown \\ \text{C}_2\text{H}_5\text{O} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	261,153
2072 H.C.	$\begin{array}{c} \text{C}_2\text{H}_5\text{O} \\ \diagup \\ \text{P}-\text{O}-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2 \\ \diagdown \\ \text{C}_2\text{H}_5\text{O} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	275,195

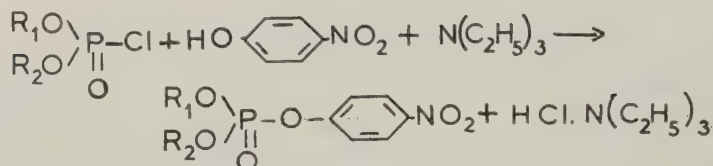
Les composés 2070, 2071 et 2072 ont pour formule générale :



B — Préparation :

Ces corps sont obtenus par action du chlorure de l'acide dialcoylephosphorique sur le paranitrophénol en milieu organique anhydre (éther ou benzène) et en présence de la triéthylamine comme accepteur d'acide chlorydrique.

La réaction générale pour les trois composés peut s'écrire de la façon suivante :



1) Mode opératoire :

A 0,1 mole de chlorure de l'acide dialcoyle-phosphorique dilué dans 50 ml d'éther, on ajoute goutte à goutte en agitant un mélange de :

0,1 mole de paranitrophénol

0,1 mole de triéthylamine

50 ml d'éther

La température du mélange réactionnel est maintenue entre 0° et 5° durant la réaction. L'addition terminée on continue à agiter deux heures à la température ambiante, puis on abandonne la préparation une nuit à la température ordinaire.

On élimine par filtration le chlorydrate de triéthylamine, chasse l'éther sous vide et on isole le produit par distillation sous vide.

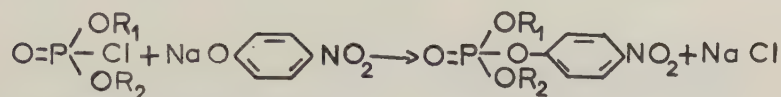
Le rendement de la réaction est d'environ 65 %.

A côté de cette technique utilisée dans le service de Chimie de l'Institut de Pharmacologie*, il en existe beaucoup d'autres. Nous allons rapidement en passer quelques unes en revue :

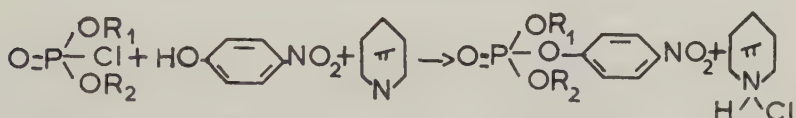
2) Pour la synthèse du 2070 et 2072, G. SCHRADER [106] emploie plusieurs méthodes :

* Institut de Pharmacologie de la Faculté de Médecine de Paris :
Directeur : Professeur J. CHEYMOL
Service de Chimie : M^r P. CHABRIER

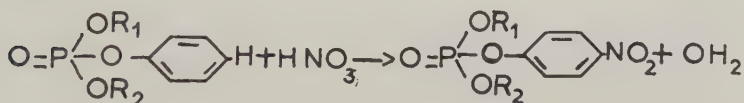
a) Réaction entre le chlorure de l'ester dialcoylique de l'acide phosphorique et le sel sodique anhydre du paranitrophénol.



b) Réaction entre le paranitrophénol et le chlorure de phosphate de dialcoyle, en employant la pyridine anhydre comme agent anti-acide.

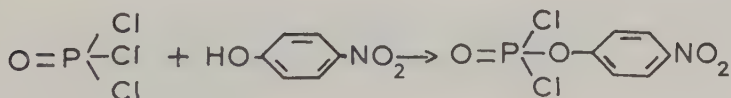


c) Nitration du phosphate du diéthylphényl.



3) Autre type de synthèse, selon RAMON CEBRIAN [100]

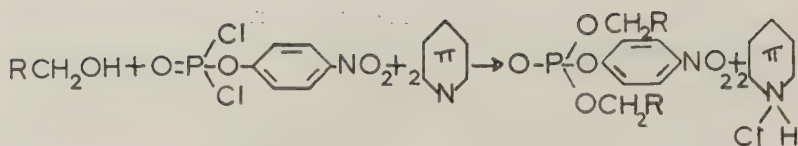
a) Obtention du dichlorure de l'acide paranitrophényl-phosphate par réaction équimoléculaire entre l'oxychlorure de phosphore et le paranitrophénol.



La réaction débute à la température ordinaire et se continue en chauffant progressivement le mélange réactionnel jusqu'à 180°.

b) Les esters phosphoriques sont obtenus par deux procédés:

— Réaction du dichlorure de l'ester paranitrophénol avec l'alcool pur correspondant en présence de pyridine anhydre.

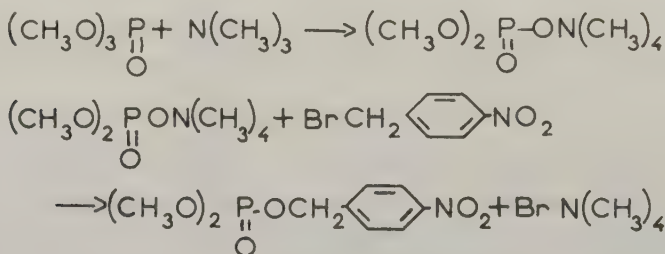


Le rendement est faible.

— Réaction entre l'agent phosphorylant et l'alcool en employant le vide et une augmentation graduelle de la température comme agent de désacidification. Le rendement dans ce cas est très bon.

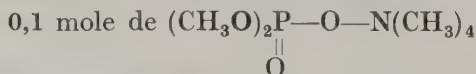
4) Préparation du composé 2070 bis

Ce composé s'obtient par action du bromure de paranitrobenzyle sur le diméthylphosphate de tétraméthylammonium en milieu éthanol anhydre. Le diméthylphosphate de tétraméthylammonium s'obtient facilement en faisant réagir le phosphate triméthylque sur une solution acétonique de triméthylamine, on a :



Mode opératoire :

On chauffe à reflux pendant 4 heures un mélange de :



0,1 mole de $\text{BrCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$

50 ml d'éthanol anhydre

On laisse le mélange revenir à la température ambiante, on élimine le bromure de tétraméthylammonium par filtration, on chasse l'éthanol sous vide.

Rendement de la réaction : 60 %.

C — CARACTERES PHYSICO-CHIMIQUES

1) Constantes physiques

Ces corps se présentent sous forme de liquides, colorés en jaune clair.

Les points d'ébullition sont les suivants :

sous 0,1 mm de mercure	2070 H.C.	149°
	2070 bis H.C.	152°
	2071 H.C.	151°
	2072 H.C.	155°

On constate, comme c'est généralement le cas dans une même série, une augmentation du point d'ébullition avec le nombre d'atomes de carbone.

Le 2072 H.C., encore appelé Mintacol, Paraoxon, E. 600, Eticol, a été particulièrement étudié. En effet, nous relevons dans la littérature un certain nombre de constantes :

- selon SCHRADER, [105]
liquide jaune
distillant à 173°, poids spécifique 1,2 à 20°
- selon HECHT et WIRTH [51]
liquide incolore, distille à 174° sous 17 mm de Hg
densité à 4° : 1,36
- selon RAMON CEBRIAN [100]
point d'ébullition 186° sous 8 mm Hg
- selon WIRTH [125]
point d'ébullition 178° sous 2 mm de Hg
poids spécifique 1,2 à 20°

2) Solubilité

Ces corps sont facilement solubles dans les solvants organiques (alcool), dans les huiles (huile d'olive) et dans le polyéthylèneglycol. Ils sont solubles dans l'eau, dans la proportion de 0,1 % à la température du laboratoire.

3) Stabilité

Les solutions aqueuses sont stables et incolores à pH inférieur à 6 ; à un pH au dessus de 6, elles présentent une coloration vert-jaune.

En milieu alcalin, il y a rapidement saponification.

Selon WIRTH,[125] des solutions aqueuses de Mintacol (2072) à pH 6,8 stockées pendant plus d'un an, ont conservé leur activité entière sur l'œil du Chat.

La stabilité des produits en solution aqueuse présente un intérêt capital pour la conduite de l'expérimentation. Nous avons étudié cette stabilité en envisageant l'activité anticholinestérasique des solutions à des intervalles de temps de 5 à 36 jours.

Voici quelques résultats expérimentaux donnant en fonction du taux de dilution de la solution, le taux d'inhibition de la pseudo ou de la vraie cholinestérase.

Ce tableau prouve incontestablement la grande stabilité des solutions dans l'eau.

		DATES		Nombre de jours
		2.3.62	6.3.62	5
2070 H.C.	Pseudocholin.	1.10 ⁻⁶ 25 %	21 %	
		1.10 ⁻⁷ 21 %	13 %	
	Vraie cholin.	1.10 ⁻⁶ 20 %	18 %	
		1.3.62	8.3.62	7
		1.10 ⁻⁶ 68 %	60 %	
		1.10 ⁻⁶ 56 %	81 %	
		1.10 ⁻⁷ 13 %	16 %	
		23.2.62	2.3.62	7
		1.10 ⁻⁷ 68 %	62 %	
		5.10 ⁻⁸ 30 %	45 %	
		1.10 ⁻⁸ 11 %	21 %	
		[30.1.62] ² }	8.3.62	36
2072 H.C.	Vraie cholin.	1.10 ⁻⁶ 55 %	62 %	

II — MÉTABOLISME DES ORGANOPHOSPHORÉS

Le métabolisme des organophosphorés est encore assez mal connu. De multiples facteurs d'ordre surtout biochimique restent à préciser pour connaître leur devenir dans l'organisme et les processus qui contribuent à les détoxiquer ou les activer.

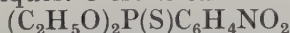
Dans une mise au point récente, MOUNTER [94] a réuni les travaux sur les enzymes capables d'hydrolyser les esters organophosphorés toxiques sans subir d'inhibition par ces composés.

Les organophosphorés s'administrent habituellement par voies sous-cutanée, intra-musculaire, intra-veineuse, au cours de leur étude systématique sur les animaux de laboratoire. Au cours des accidents toxiques observés chez l'homme, il y a lieu d'envisager leur pénétration dans l'organisme par inhalation et leur absorption par voie trans-cutanée, surtout sur un revêtement présentant des solutions de continuité. Cette propriété rend leur manipulation très dangereuse. Il faut signaler une autre voie d'administration : l'absorption par l'épithélium de la cornée.

L'emploi des composés préparés avec du ^{32}P a permis de préciser les points de fixation préférentiels. Le foie, le rein et le poumon en retiennent une concentration relativement importante. Les muscles, le cœur et le cerveau n'en contiennent qu'une faible proportion.

Des expériences ont montré que, les esters organophosphatés sont toxiques *in vivo* et cependant inactifs sur la cholinestérase *in vitro*, on pouvait imaginer que leur métabolite était une anticholinestérase plus active que le produit lui-même. Le métabolisme *in vivo* peut conduire à des composés à la fois plus toxiques ou moins toxiques.

Comme exemple d'activation dans l'organisme d'un composé organophosphoré, GAGE [37] GAGE et PAYTON [36] ont montré la dégradation de thiophosphates en phosphates beaucoup plus toxiques. C'est le cas du Parathion :



qui serait oxydé dans le foie pour donner le Paraoxon (2072) plus toxique :



a) ACTION SUR D'AUTRES ENZYMES QUE LES CHOLINESTÉRASES

L'action inhibitrice des composés organophosphorés s'exerce vis à vis d'autres systèmes enzymatiques.

ALDRIDGE [5] dans une mise au point très documentée a réuni la bibliographie concernant l'inhibition des estérases carboxyliques par un nombre important d'organophosphorés.

La liste des enzymes étudiées est la suivante :

- Chymotrypsine
- Trypsine
- Cholinestérase
- Estérase hépatique
- Estérase du lait
- Acétylestérase (orange et blé)
- Plasmine
- Béta-estérase
- Cholestérol-estérase
- Protéinase (bactérienne)

En dehors de ces enzymes seraient inhibées également :

- Cholineoxydase
- Carboanhydrase
- Amylase
- Déshydrogénase
- Procaïnestérase
- Aspirineestérase
- Cytochromeoxydase

b) — MÉTABOLISME PARTICULIER DU 2072

Des essais pratiqués sur la Souris montrent que le 1/6 de la dose mortelle est éliminée en l'espace d'environ 2 à 3 heures.

Le 2072 est hydrolysé par un enzyme découvert par ALDRIDGE [1-2-3] dans le sérum de Cheval, de Rat, de Lapin, qu'il appelle E.600-estérase, libérant le groupement parani-trophényle.

La E.600-estérase est inhibée par le sulfate de cuivre, le sulfate de nickel et par l'acide parachloromercuribenzoïque, inhibition qui peut être réversible grâce au glutathion et à la cystéine, ce qui suggère que la E.600-estérase a besoin, pour développer son activité des groupements fonctionnels - SH.

Pour les autres produits, nous n'avons rien de particulier à apporter en ce qui concerne le métabolisme. Toutefois, les expériences réalisées sur l'animal entier donnent une idée de la durée d'action de ces produits ce qui est vraisemblablement un reflet de leur métabolisme et de leur élimination.

Mais on peut remarquer que le composé 2070 bis possédant un chaînon CH_2 intercalé entre le groupement paranitrophényle et l'acide phosphorique se comporte du point de vue pharmacodynamique comme un dérivé extrêmement peu actif. Cette activité très basse s'explique peut-être par une hydrolyse plus rapide.

Chapitre III

TOXICITÉ

I - GÉNÉRALITÉS

II - DÉTERMINATION DE LA TOXICITÉ

TOXICITÉ

I — GÉNÉRALITÉS SUR LA TOXICITÉ DES ORGANOPHOSPHORÉS

Les organophosphorés sont très toxiques pour l'Homme et les animaux possédant un système nerveux assez développé.

La toxicité pour les animaux à sang chaud dépend évidemment de la constitution moléculaire. C'est ainsi que par voie sous-cutanée chez le cobaye, le Parathion n'est mortel qu'à la dose de 25 à 30 milligrammes par kilogramme, alors que les doses mortelles du Tabun ou du Sarin sont très voisines de 0,3 et 0,05 mg/kg. Dans les mêmes conditions, le D.F.P. n'est toxique qu'à la dose de 6 milligrammes par kilogramme.

KOVACHE [76] a pu émettre quelques données sur la structure que doit posséder un composé organophosphoré pour obtenir une toxicité très élevée. Sa structure doit satisfaire aux exigences suivantes :

- 1) L'atome de phosphore doit être pentavalent et relié à un atome d'oxygène.
- 2) Il doit être relié à un atome de fluor ou à un groupement -CN et à un seul.
- 3) Les deux autres valences doivent être saturées par deux groupements différents : une par une fonction alcool dont le squelette hydrocarboné doit être ramifié, l'autre par un groupement alkylé ou arylé. Ceci traduit l'énorme différence de toxicité existant entre le Sarin et le D.F.P., l'un étant un alkyl ester, l'autre un diester.

La toxicité dépend parfois du sexe. Elle dépend également de la physiologie de l'animal. C'est ainsi que certaines grenouilles (*Rana castebeyana*) seraient assez peu sensibles au Sarin (D.L. 50 : 6 mg/kg). Or l'intégrité fonctionnelle des nerfs de ces animaux subsiste pour des taux très bas en cholinestérases, ce qui montre l'influence considérable du pouvoir anticholinestérasique sur la toxicité.

II — DETERMINATION DE LA TOXICITÉ

Conditions expérimentales

La dose léthale 50 a été déterminée chez la Souris blanche d'un poids compris entre 17 et 22 grammes.

La détermination de la toxicité de ces produits a porté sur 300 souris.

Pour les 2070, 2071 et 2072, la dose léthale 50 a été déterminée par voie intraveineuse. L'injection de 0,20 à 0,40 ml d'une solution aqueuse pour une souris de 20 grammes est pratiquée en 20 secondes.

Les concentrations employées sont respectivement :

2070 :	1 ml = 0,04 mg	2071 :	1 ml = 0,04 mg
	1 ml = 0,025 mg		1 ml = 0,02 mg
	1 ml = 0,02 mg		1 ml = 0,01 mg
	1 ml = 0,01 mg		1 ml = 0,005 mg
2072 :	1 ml = 0,04 mg		
	1 ml = 0,025 mg		
	1 ml = 0,02 mg		

Au cours de ces déterminations, la température du laboratoire s'est maintenue entre 16 et 18°.

Les lectures ont été faites immédiatement après l'injection et 24 heures après.

Symptômes de l'intoxication

Immédiatement après l'injection, pour les doses sub-léthales, on observe un certain nombre de signes caractéristiques qui peuvent s'énumérer comme suit :

- inquiétude
- incoordination motrice
- contraction fibrillaire des muscles
- accélération de la respiration
- dyspnée
- sialorrhée

- constamment : convulsions cloniques, toniques
convulsions spontanées ou se déclanchant à la moindre stimulation (choc sur les parois du bocal par exemple)
- défécation, accélération du péristaltisme, émission d'urines
- les contractions fibrillaires persistent longtemps après la mort.

Pour les doses infra-léthales, guérison après convulsions.

La mort tardive, après 24 ou 48 heures n'a pas été observée.

Résultats

Les doses léthales pour 50 % des animaux, calculées par la méthode de BEHRENS et KARBER [16], sont les suivantes :

2070 : en I.V. = 0,55 mg par kilogramme

2071 : » » = 0,30 » » »

2072 : » » = 0,65 » » »

Les doses sont assez groupées pour le 2070 et le 2072, par contre le composé 2071 bien qu'étant situé dans le même ordre de grandeur, se distingue de ses deux voisins par une toxicité deux fois plus forte.

Cas particulier du 2070 bis

La détermination de la toxicité de ce composé a posé un problème particulier de solubilité.

En effet, ce produit se montre extrêmement peu toxique ce qui nécessite pour la détermination par voie intra-veineuse des concentrations de principe actif incompatibles avec la solubilité limitée du produit dans l'eau.

Pour conserver la même voie d'introduction que pour les précédents, une première tentative a été faite avec le polyéthylèneglycol qui permet de solubiliser assez facilement le produit à des concentrations importantes. Même à ces concentrations, la toxicité est si faible que le volume du solvant qu'il est nécessaire d'injecter pour observer une action léthale, fait intervenir nécessairement la toxicité propre du solvant lui-même. Cette toxicité du solvant ayant été déterminée au préalable.

La voie intra-péritonéale a été adoptée pour faire pénétrer le toxique à l'intérieur de l'organisme. Le polyéthylène glycol une fois de plus n'a pas permis d'employer des concentrations suffisamment fortes pour se mettre à l'abri de la toxicité propre du solvant.

Les solutions ont été préparées dans l'huile d'olive neutralisée, qui permet de solubiliser facilement de fortes quantités de ce produit.

Les résultats obtenus sont les suivants :

2070 bis H.C.	en I.P.	=	600	mg/kg
2070 H.C.	«	=	1,5	mg/kg
2072 H.C.	«	=	1,8	mg/kg

Par la voie intra-péritonéale, le 2070 bis est 400 fois moins toxique que son homologue diméthylé le 2070. Connaissant la toxicité du 2070 par les voies intra-péritonéale et intra-veineuse, on peut tout de même se faire une idée de la toxicité comparée de ces quatre composés.

On s'aperçoit d'autre part que la toxicité des 2070 et 2072 par la voie intra-péritonéale est assez voisine comme nous l'avons vu pour la voie intra-veineuse, avec toutefois le même ordre de toxicité, c'est-à-dire que le 2072 reste un peu moins toxique. Nous pouvons dire en outre que la D.L. 50 par voie intra-péritonéale exige des doses trois fois plus fortes que par la voie intra-veineuse.

Toxicité comparée

D.L. 50 exprimée chez la Souris en mg/kg

2070 bis H.C.	en I.P.	=	600	mg/kg
2070 H.C.	en I.P.	=	1,5	mg/kg
	en I.V.	=	0,55	mg/kg
2071 H.C.	en I.V.	=	0,30	mg/kg
2072 H.C.	en I.P.	=	1,8	mg/kg
	en I.V.	=	0,65	mg/kg

Ce tableau montre que le 2071 est nettement le plus toxique, environ deux fois plus que le 2072, Puis vient dans l'ordre décroissant de la toxicité le 2070 et le 2072 qui est le moins toxique des trois.

Très éloigné de la toxicité des précédents, le 2070 bis est 400 fois moins toxique que le 2070.

Toxicité du 2072 H.C.

Le tableau ci-dessous donne quelques chiffres relevés dans la littérature sur la toxicité de ce composé.

D. L. 50	chez la Souris	en I.V.	: 0,65 mg/kg
»	»	»	I.P. : 1,80 mg/kg
»	»	le Rat	» I.M. : 0,75 mg/kg (BAYO BAYO)
Dose létale	chez le Chat	en I.V.	: 0,40 mg/kg (BAYO BAYO)
»	»	chez le Chat et	
		la Souris	en I.V. : 0,60 à 0,80 mg/kg (WIRTH)
»	»	chez le Cobaye	
		et le Lapin	en I.V. : 0,40 mg/kg

Ce tableau montre une fois de plus que la toxicité varie avec la voie d'introduction. Néanmoins, les chiffres cités sont situés dans la même zone. Il y a donc une concordance satisfaisante entre les doses toxiques ; ceci est vraisemblablement dû à la stabilité des solutions aqueuses.

La D.L. 50 chez le Rat par voie I.M. est légèrement supérieure à la voie intra-veineuse, ceci s'explique facilement par le mode d'administration, la résorption étant plus lente par voie I.M.

Quant à la détermination des doses létales par voie intra-veineuse, il est bien connu depuis les travaux de WINJGAARDEN (1926), que ce procédé nécessite un nombre élevé d'animaux pour obtenir une valeur moyenne assez précise.

Toxicité du 2072 chez diverses espèces animales

Chez la Grenouille, les hautes doses toxiques de Mintacol déterminent comme l'ésérine, des paralysies, alors que chez le Cobaye on a observé des symptômes purement végétatifs : augmentation de la sécrétion salivaire, polyurie, larmolement, dyspnée asthmatique, ainsi que le tremblement musculaire qui caractérise l'effet de la physostigmine.

Il s'y ajoute, moins chez le Lapin que chez la Souris et le Chat, des états d'excitation allant jusqu'à des crampes toniques et cloniques. Du reste, les doses toxiques de physostigmine provoquant elles aussi, à côté des symptômes végétatifs, des états d'excitation comme étant d'origine centronerveuse, tandis que les symptômes végétatifs sont d'origine périphérique.

Lors de l'administration sous-cutanée de solutions aqueuses, la dose tolérée est chez la Souris, le Lapin, le Cobaye et le Chat, assez uniformément située aux environs de 0,1 mg/kg. Cette dose administrée en sous-cutanée quotidiennement pendant 12 jours consécutifs à des lapins et des chats n'a influé ni sur l'état général, ni sur l'appétit, ni sur le poids corporel.

Par voie buccale, la substance est moins active.

L'insensibilité de la Grenouille est frappante. Au point de vue toxicité comparée à la physostigmine, le 2072 est un peu moins actif chez la Souris et un peu plus actif chez le Lapin et le Chat.

PATHOLOGIE DE L'INTOXICATION

HOLMSTEDT, KROOK et ROONEY [60] ont essayé de clarifier la pathologie de l'intoxication aigue chez l'animal.

Des autopsies chez l'animal, pratiquées soit tout de suite après la mort, soit à des intervalles divers après la mort, ont montré des lésions tout à fait caractéristiques : emphysème pulmonaire, hyperhémie et œdème dans le tissu sous-cutané, le tractus gastro-intestinal, le foie, la rate, les méninges, le cerveau et les reins.

L'emphysème pulmonaire est dû à la bronchoconstriction qui provoque la sténose des bronches avec hyperpnée et hypersécrétion, mais l'œdème pulmonaire n'est pas la cause de la mort. L'atteinte de la circulation semble être une cause très importante de la mort au cours de l'intoxication par les organophosphorés.

Chapitre IV

ACTION SUR LES CHOLINESTÉRASES

I — GÉNÉRALITÉS

- a) — Nature et répartition des cholinestérases
- b) — Acétylcholine : Formation et hydrolyse
- c) — Rôle biochimique des cholinestérases

II — ACTION DES ORGANOPHOSPHORÉS SUR LES CHOLINESTÉRASES

- a) — Mécanisme de l'inhibition des cholinestérases
- b) — Dégradation des enzymes inhibées
- c) — Effets in vivo des inhibiteurs de la cholinestérase
- d) — Réactivation des cholinestérases

III — DÉTERMINATION DE L'ACTIVITÉ ANTICHO- LINESTÉRASIQUE

- a) — **In vitro**
 - Résultats expérimentaux :
 - Méthode manométrique
 - Méthode électrométrique
- b) — **In vivo**
 - Généralités
 - Lacrymation pigmentée chez le Rat

IV — RELATIONS ENTRE LA TOXICITÉ IN VIVO ET L'ACTIVITÉ

Inhibition de la cholinestérase

V — CONSÉQUENCES DE L'INHIBITION DES CHOLINESTÉRASES

I — GÉNÉRALITÉS

A — NATURE ET RÉPARTITION DES CHOLINESTÉRASES

C'est dans le cœur des grenouilles que, pour la première fois, LÆWI et NAVRATIL [82] mirent en évidence la présence d'un enzyme détruisant la substance vagale. Le nom de cholinestérase fut proposé par STEDMAN, STEDMAN et EASSON [112] en 1926.

On divise ces enzymes en deux groupes : d'une part, les pseudocholinestérases et, d'autre part, les cholinestérases vraies. Actuellement, à la suite des travaux de MENDEL, MUNDEL et RUDNEY [89, 90], de NACHMANSOHN et ROTHENBERG [96, 97], d'AUGUSTINSSON [8, 9, 10], de GOLDSTEIN [39], d'ELLIS [33, 34], de Jeanne LÉVY [78, 79, 80], de KÛLLE [71], on peut admettre cette classification ; il ne subsiste que quelques réserves.

Les *pseudocholinestérases* se trouvent en grande quantité dans le sérum et le foie, ainsi qu'en plus faible teneur dans l'intestin, comme l'ont montré KÛLLE et collaborateurs [73, 74]. Elles sont caractérisées surtout par le fait qu'elles peuvent hydrolyser d'autres esters de la choline avec une vitesse supérieure à celle de l'acétylcholine. Ainsi, les pseudocholinestérases peuvent hydrolyser la benzoylcholine, la butyrylcholine, mais non la mécholine. Comme les ali-estérases avec lesquelles elles voisinent dans le sérum, elles peuvent être totalement inhibées sans qu'apparaissent les signes de leur inhibition.

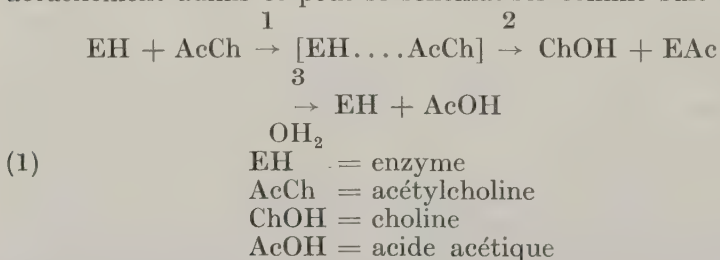
Les acétylcholinestérases ou *cholinestérases vraies* ou cholinestérases spécifiques, se trouvent dans les érythrocytes et dans certains tissus, notamment le tissu nerveux. Elles catalysent l'hydrolyse de l'acétylcholine avec une vitesse supérieure à celle de tous les autres esters de la choline. Les cholinestérases vraies peuvent hydrolyser la mécholine, la propionylcholine, mais non la butyrylcholine. Leur rôle dans l'organisme est capital, car ce sont elles qui provoquent l'hydrolyse de l'acétylcholine.

B — ACÉTYLCHOLINE : FORMATION ET HYDROLYSE

Le rôle important de l'acétylcholine dans la transmission de l'influx nerveux, à l'étage ganglionnaire parasympathique et même sympathique semble aujourd'hui démontré.

La choline-acétylase, découverte par NACHMANSOHN et MACHADO en 1943 [95], est responsable de la formation d'acétylcholine. Au repos, l'acétylcholine serait accumulée au niveau des terminaisons des nerfs cholinergiques, sous forme de pré-curseur inactif, probablement à l'état d'un complexe lipoprotidique [28]. L'excitation électrique de la membrane ou toute autre cause de rupture de l'équilibre, libère l'ester en l'activant.

Normalement, la présence de l'ester libre n'est que passagère, car un système régulateur, l'acétylcholinestérase [27, 28, 112] intervient pour hydrolyser l'acétylcholine en choline et acide acétique et empêche ainsi son accumulation dans les tissus. Ce processus suggéré par NACHMANSOHN et WILSON [98] semble actuellement admis et peut se schématiser comme suit :



Les réactions 1 et 2 sont lentes, tandis que la réaction 3, c'est-à-dire l'hydrolyse de l'enzyme acétylé, est rapide.

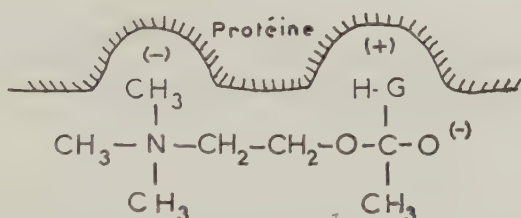
La mise en évidence du rôle des cholinestérases a bénéficié dans une large mesure de l'emploi des inhibiteurs irréversibles que sont les phosphates d'alcyles.

C — RÔLE BIOCHIMIQUE DES CHOLINESTÉRASES

On admet que, conformément à l'hypothèse de MICHAELIS et HENRY, les cholinestérases catalysent l'hydrolyse de l'acétylcholine, par suite de la combinaison de l'enzyme avec le substrat. Cette combinaison qui « activerait » la molécule d'acétylcholine

et faciliterait son hydrolyse se ferait en deux points à la surface de l'enzyme :

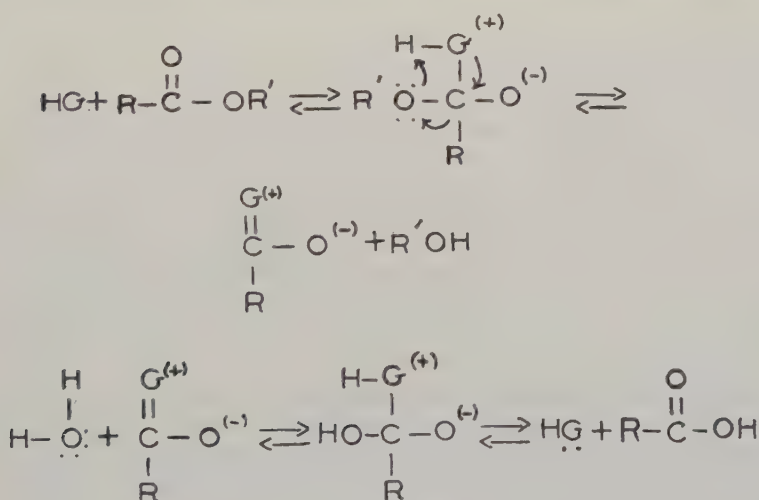
1) Par un point chargé négativement (*anionic site*) sur lequel se fixerait la fonction ammonium quaternaire de l'acétylcholine. Cette liaison due aux forces de Van der Waals serait assez lâche.



2) Par un point chargé positivement sur lequel se fixerait le carbone de la fonction ester de l'acétylcholine. Les forces assurant cette fixation sont des forces dites de covalence, plus grandes que les précédentes, de sorte que la liaison enzyme-acétylcholine serait plus solide au niveau de la fonction ester qu'au niveau de la fonction ammonium quaternaire.

L'hydrolyse de l'acétylcholine comporterait ensuite deux stades :

a) A la suite d'un réarrangement de la position des électrons



gravitant autour de l'atome d'oxygène de l'oxhydrile alcoolique, il y aurait coupure de l'acétylcholine à son niveau (ce qui est conforme à la notion du point d'attaque des esters en cours d'hydrolyse). L'hydrogène de l'enzyme viendrait se fixer sur cet oxygène, la choline n'étant plus reliée à l'enzyme que par les forces très lâches de Van der Waals, s'en sépare et il ne resterait plus qu'un enzyme acétylé :

b) Cette enzyme acétylée est très actif, il va facilement réagir avec l'eau ou les agents donateurs d'électrons pour former un composé d'addition très instable d'où se détachera l'acide acétique tandis que l'enzyme sera régénérée.

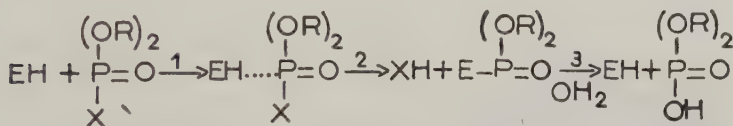
II — ACTION DES ORGANOPHOSPHORÉS SUR LES CHOLINESTÉRASES

A — MÉCANISME DE L'INHIBITION DE LA CHOLINESTÉRASE

D'après la mise au point de DELGA [30] on peut envisager le mécanisme d'inhibition de la manière suivante :

Les dérivés organophosphorés sont des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase. Cette inhibition, d'ailleurs souvent partiellement réversible, serait due à la phosphorylation de l'enzyme, réaction qui se passe comme celle de l'acétylation :

(II)



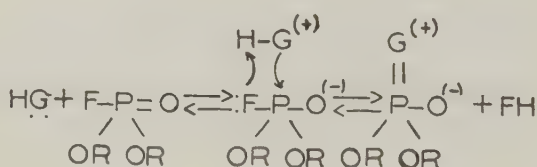
Mais, à l'encontre de la réaction (1), l'hydrolyse en (3) de l'enzyme phosphorylée est lente, quelquefois nulle, de sorte que l'acétylcholine (dont la libération à partir du précurseur continue à se faire) s'accumule dans l'organisme et exerce une action toxique au niveau des organes à innervation parasympathique, tels que l'œil, glandes sudoripares, salivaires, bronchiques (hypersécrétion), cœur, estomac et intestin (augmentation du péristaltisme et des sécrétions).

Comme nous venons de le voir pour l'enzyme et son substrat, l'acétylcholine, on peut envisager un mécanisme d'action plus intime au niveau électronique de l'action des organophosphorés.

Entre l'enzyme et l'inhibiteur il se forme un complexe d'addition réversible impliquant une liaison de coordination entre le groupement basique du lieu estérasique de l'enzyme et l'atome de phosphore électrophile. Cette liaison est suivie d'un transfert de proton du groupe acide à un atome d'oxygène

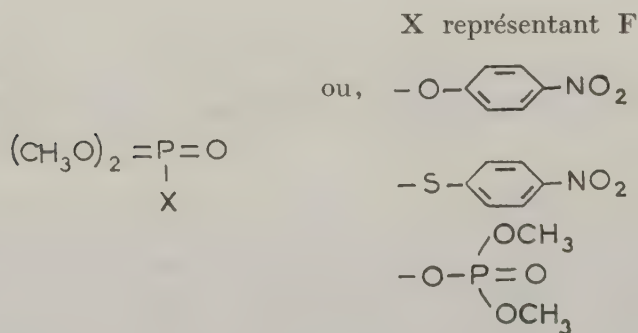
(cas du T.E.P.P., du Paraoxon ou 2072, D.F.P.) simultanément avec l'attaque basique de l'atome de phosphore qui a pour résultat la libération d'un atome de phosphore d'un phénol ou d'un acide halogéné.

L'enzyme phosphorylée obtenue ne réagit que très lentement avec l'eau. La réaction d'inhibition peut se présenter ainsi :



Ce schéma présenté par WILSON et MEISLICH [122] montre que la structure et les propriétés de l'enzyme phosphorylée ne dépendent que de la nature des groupements alcoylés.

ALDRIDGE et DAVISON [4] ont montré que, quel que soit l'inhibiteur utilisé, sa structure étant :



$-\text{O}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{NO}_2$ étant le dénominateur commun des composés de la série envisagée ici, la vitesse de réactivation de l'enzyme inhibée par un de ces corps est la même dans tous les cas.

De même la vitesse de réactivation de l'enzyme inhibée par le fluorophosphate de diéthyle est la même que celle de l'enzyme inhibé par le T.E.P.P. Au contraire, la vitesse de réactivation de l'enzyme inhibée par le D.F.P. est beaucoup plus faible.

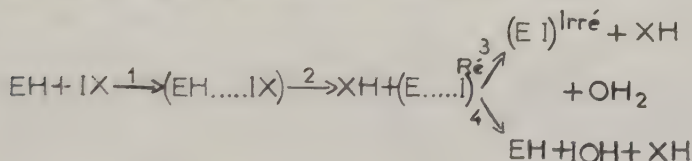
Autre mécanisme de l'inhibition de la cholinestérase selon Holmstedt [59].

L'auteur rappelle que le mécanisme d'action a souvent été étudié avec la chymotrypsine, car cet enzyme est facile à obtenir à l'état cristallisé. On a démontré que lorsque la chymotrypsine est inhibée par le D.F.P. ou le E.600 (2072 H.C.), enzyme et inhibiteur réagissent molécule à molécule, c'est-à-dire qu'une molécule de dérivé phosphoré est liée à une molécule d'enzyme. On sait aussi qu'une molécule d'acide est libérée pour chaque molécule d'enzyme inhibée [12, 43, 61, 63, 64, 65, 66, 69].

Le marquage des organophosphorés avec du ^{32}P a montré que la liaison entre l'enzyme et l'inhibiteur était si forte qu'elle n'est rompue que par dialyse ou recristallisation de l'enzyme. L'inhibition de la cholinestérase par les organophosphorés a été interprétée comme un processus de phosphorylation par BURGEN en 1949 [20].

Plus tard, WILSON et BERGMANN en 1950 [121] arrivaient au même résultat.

La phosphorylation de l'enzyme est précédée de la fixation initiale de l'inhibiteur sur l'enzyme. Toutes ces expériences montrent que l'enzyme est phosphorylée par les composés, le processus peut se schématiser selon la réaction :



R = réactivateur,

IX = inhibiteur dont X est un groupe labile,

EH = enzyme,

(EH...IX) = premier complexe hypothétique entre inhibiteur et enzyme,

(E...I)^{R^e} = enzyme inhibée réactivable,

(EI)^{Irré} = enzyme inhibée non réactivable.

L'activité de l'enzyme revient au même taux lorsque l'enzyme est inhibée par des composés qui diffèrent par le reste X, mais ont R₁ et R₂ commun. De même l'activité enzymatique revient de la même façon après inhibition par le diméthylparanitrophénylphosphate, le T.E.P.P., le Parathion,

ce qui montre que dans chaque cas, sans relation avec l'inhibiteur il s'est produit une enzyme diméthylphosphorylée [4].

La facilité d'hydrolyse des composés phosphorylés peut être considérée comme une indication de leur activité sur les enzymes. De même, il est évident que les inhibiteurs organophosphorés phosphorylent l'enzyme. L'intermédiaire, l'enzyme phosphorylée est beaucoup moins actif que l'enzyme acétylée correspondant.

La réaction ci-dessus n'exclut pas la possibilité que les dérivés organophosphorés agissent comme des substrats, pourvu que les intermédiaires phosphorylés soient suffisamment instables. Ceci a été partiellement prouvé avec les inhibiteurs diméthylphosphorés et la choline-estérase vraie. La forme, la stabilité de l'inhibiteur et de l'intermédiaire estérifié influent aussi sur l'activité des organophosphorés.

B — DÉGRADATION DES ENZYMES INHIBÉS MARQUÉES PAR DES ISOTOPES

Des essais ont été pratiqués pour élucider la structure du ou des centres actifs de la cholinestérase grâce aux inhibiteurs marqués au phosphore radioactif 32. Depuis que l'on sait que les dialkylphosphates restent solidement attachés au centre actif de l'enzyme, la dégradation de l'enzyme inhibée a été précisée à l'aide des aminoacides voisins du centre actif que l'on a pu isoler. On envisage essentiellement l'histidine, la tyrosine et peut être aussi la sérine.

C — EFFETS « IN VIVO » DES INHIBITEURS DE LA CHOLINESTÉrase

Le 2072 H.C. à dose létale chez la Souris [56] provoque un accroissement considérable de l'acétylcholine totale du cerveau. Ces auteurs ont montré qu'un traitement préalable avec des dérivés hydrocarbonés (H.C.H.), non seulement diminuent ou abolissent les signes d'intoxication chez la Souris, mais aussi ramènent le taux d'acétylcholine du cerveau à la normale.

Le même traitement préalable n'a aucune influence sur l'intoxication par l'ésérine, c'est pourquoi [56] les auteurs

concluent que le mécanisme central de l'action du Mintacol et de l'ésérine est différent.

Des échantillons de sang de rats empoisonnés au Mintacol contenaient, dans les expériences de STEWART [113], des doses d'acétylcholine variant de 0,008 à 0,03 $\mu\text{g/ml}$.

BARNES et DUFF [14] ont déterminé le taux d'acétylcholine dans le sang en utilisant le muscle de sangsue. Ils donnent le Mintacol par doses successives de 0,5 mg/kg ; il y a toujours une augmentation progressive de l'acétylcholine dans le sang du Lapin et du Chat (jusqu'à environ 0,04 $\mu\text{g/ml}$ de sang total).

Chez le Chien, le taux monte aussi, mais pas au même niveau que chez le Chat ou le Lapin, et l'augmentation n'est pas progressive. Si l'on répète les injections d'inhibiteur, le Chien paraît devenir insensible au Mintacol, tout en restant sensible aux injections d'acétylcholine.

Les expériences ci-dessus n'excluent pas qu'il puisse y avoir une différence d'espèce dans le taux d'acétylcholine atteint dans le sang des animaux empoisonnés. Ce fait est peut être responsable de l'échec de BETH et collaborateurs dans leurs recherches de substances semblables à l'acétylcholine dans le sang des cobayes intoxiqués progressivement avec du Mintacol. Ni la méthode du grand droit de Grenouille, ni la méthode du cœur de Grenouille de STRAUB n'ont révélé la présence d'acétylcholine ou de substances proches de l'acétylcholine dans le sang des cobayes.

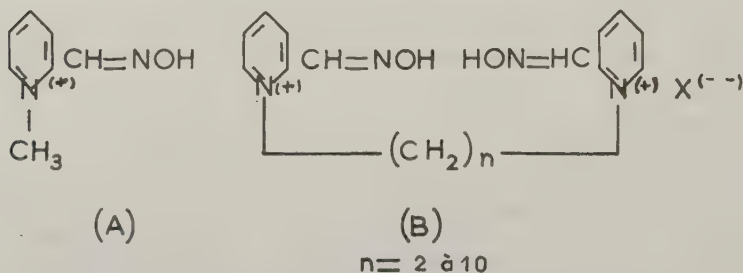
Il semble qu'il y ait une légère incertitude quant à la production possible d'accroissement du taux d'acétylcholine par les organosphosphorés dans le sang et les tissus, et, cependant, pour contrebalancer les doses mortelles, il faut d'énormes quantités d'antidote et la respiration artificielle. Il est vraisemblable, d'après ce que nous savons actuellement de la transmission, que la décharge locale d'esters de la choline à certains points stratégiques est un facteur plus important dans la pharmacologie de l'inhibition de la cholinestérase que l'augmentation du taux d'acétylcholine ou d'esters de la choline circulants.

D — RÉACTIVATION DES CHOLINESTÉRASES

De nombreux travaux ont été faits pour étudier la réactivation de l'enzyme inhibée [83]. Il convient de rappeler que,

dès 1950, HAZARD, CORNEC et PIGNARD [46] ont signalé que la dihydroné réactive la cholinestérase du sérum humain inhibée par le D.F.P.

On a pu montrer que certaines substances agissaient comme activateurs de la déphosphorylation. Les meilleurs résultats semblent avoir été obtenus à ce jour avec des oximes dérivés de la pyridine, surtout sous forme de leurs sels d'ammonium quaternaire. Nous ne citons ici que l'iodométhylate de pyridine-aldoxime-2, ou P.A.M. (A) et les aldoximes bis quaternaires (B), tels que les halogénures de la I—I' polyméthylène-bis-pyridium (B).



III — DÉTERMINATION DE L'ACTIVITÉ ANTICHOLINESTÉRASIQUE

A — IN VITRO

Les techniques utilisées pour déterminer l'activité cholinestérasi-que sont assez nombreuses, mais toutes sont basées sur le même principe : mettre en contact la préparation enzymatique avec le substrat (acétylcholine). Pour apprécier l'activité de l'inhibiteur, on ajoute celui-ci au mélange réactionnel. Dans des conditions expérimentales données, on apprécie soit la quantité d'acide formé, soit, plus rarement, la quantité d'ester restant.

AMMON et VOSS [7] ont proposé une technique qui consiste à opérer dans un appareil de Warburg et réaliser l'hydrolyse de l'acétylcholine en milieu bicarbonaté, la mesure manométrique du gaz carbonique dégagé par l'acide libéré permet de tester l'activité de la préparation enzymatique utilisée.

MICHEL [92] a proposé aussi une technique de mesure de l'activité cholinestérasi-que par la mesure de la variation du pH (Δ pH) d'une solution contenant l'enzyme agissant pendant une heure sur le substrat.

Méthode manométrique de Warburg - Technique d'AMMON

La préparation enzymatique est constituée par la pseudo-cholinestérase du sérum humain (sérum dilué au 1/20 avec du liquide de Ringer bicarbonaté à 2 ‰).

L'estérase libère l'acide acétique de l'acétylcholine. L'acide libère le gaz carbonique du bicarbonate contenu dans le substrat. On mesure le volume gazeux dégagé.

La préparation enzymatique (1 ml) est placée dans la fiole de Warburg, la solution neutralisée d'acétylcholine à 2 ‰ (0,5 ml) est placée dans le tubulure latérale. La fiole est remplie d'un mélange d'azote (95 volumes) et de gaz carbonique

(5 volumes), puis placée dans un bain-marie à 38°. On note le dégagement gazeux toutes les 10 minutes pendant une heure comptée à partir du moment où l'enzyme et le substrat sont mis en contact.

On utilise une série de fioles contenant soit les essais témoins (sans inhibiteurs), soit les essais des substances inhibitrices (quantités croissantes dissoutes dans 0,1 ml de solution).

On détermine la quantité nécessaire pour obtenir une diminution de dégagement gazeux de 50 %. Les résultats sont exprimés en poids de substance provoquant cette inhibition 50 %.

Numéro conventionnel	Formule de Constitution	Poids moléculaire	Action anticholin. Inhibition 50 % en μg p. 1,6 ml
2070 <i>bis</i> H.C.	$(\text{CH}_3\text{O})_2\text{-P-O-CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$ $\parallel$ O	261,16	120
2070 H.C.	$(\text{CH}_3\text{O})_2\text{-P-O-C}_6\text{H}_4\text{-NO}_2$ $\parallel$ O	247,14	0,012
2071 H.C.	$(\text{CH}_3\text{O})\text{-P-O-C}_6\text{H}_4\text{-NO}_2$ $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O}) \parallel$ O	261,15	0,008
2072 H.C.	$(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{-P-O-C}_6\text{H}_4\text{-NO}_2$ $\parallel$ O	275,19	0,0016

Ce tableau montre que le 2072 est le dérivé le plus actif ; son action est 5 fois plus forte que celle du 2071 et 7 fois plus que celle du 2070.

Dans l'ordre d'activité décroissante, on peut écrire :

2072, 2071, 2070, 2070 *bis*.

On observe ainsi que le 2070 et le 2071 ont une activité assez voisine, cependant légèrement plus forte pour le 2071.

Entre le 2070 et le 2070 *bis*, il existe une différence énorme d'activité puisqu'il faut 10 000 fois plus de 2070 *bis* que de 2070 pour obtenir l'inhibiton à 50 %.

Méthode électrométrique de Michel.

Cette méthode appliquée par TAMMELIN et STRINDBERG [114] utilise une préparation enzymatique constituée :

— soit par la pseudocholinestérase du sérum humain (sérum dilué au 1/20 dans une solution tampon) :

Véronal sodique	1,2371 g
Phosphate monopotassique	0,1361 g (I)
Chlorure de sodium	17,535 g
Eau distillée	900 ml

ajouter 11,6 ml de CLH N/10 et compléter à 1 000 ml avec eau distillée pour réaliser un pH = 8.

— soit la cholinestérase vraie du cerveau de Cobaye, le cerveau est broyé dans un appareil de POTTER avec du tampon pour cholinestérase vraie dont les pH est à 8,10.

Véronal sodique	4,1236 g
Phosphate monopotassique	0,5446 g (II)
Chlorure de potassium	44,730 g
Eau distillée	900 ml

ajouter 28 ml de CLH N/10 et compléter à 1 000 ml avec eau distillée.

L'émulsion cérébrale est diluée dans ce tampon au 1/2 de manière à obtenir une suspension à 2,5 % du poids du cerveau.

Il faut, bien entendu, déterminer au préalable l'activité enzymatique de la pseudo ou de la vraie cholinestérase.

Mode opératoire.

Dans une fiole :

0,1 ml d'eau distillée,

1,9 ml de suspension de cholinestérase vraie ou dilution de pseudocholinestérase,

2 ml de tampon de Michel (I) ou (II).

Mesure du pH au temps 0, puis :

1 ml d'acétylcholine à 1 % dans l'eau distillée (à renouveler tous les jours).

La variation du pH, en 60 minutes ne doit pas dépasser 1,20. La lecture du pH toutes les 15 minutes permet de s'assurer que les chiffres obtenus se placent sur une droite, témoin d'une activité enzymatique régulière.

Cet essai préliminaire étant réalisé, on remplace les 0,1 ml d'eau distillée par des dilutions appropriées des inhibiteurs apportés sous le même volume de 0,1 ml.

Il faut signaler un point capital : celui du *temps de contact* entre l'enzyme et l'inhibiteur pour que l'action de l'inhibiteur puisse se manifester. Le temps optimum de contact, à la température de 22°, a été fixé d'après nos essais, à 30 minutes. C'est seulement après cette demi-heure de contact qu'on ajoute l'acétylcholine.

Bien entendu, au cours de ces déterminations, on effectue parallèlement un essai témoin contenant :

- 0,1 ml d'eau distillée,
- 1,9 ml d'eau distillée,
- 2 ml de tampon (I) ou (II),
- 1 ml d'acétylcholine à 1 %.

La comparaison du Δ pH préliminaire et du Δ pH après action de l'inhibiteur permet de calculer le pourcentage d'inhibition pour la dose d'inhibiteur employée.

- T = Δ pH sans inhibiteur,
- X = Δ pH avec inhibiteur,

$$\frac{T - X}{T} \times 100$$

Nous avons cherché, pour chacun des produits, la dose qui provoque 50 % d'inhibition de l'activité cholinestérasique. L'utilisation du papier logarithme-probabilité, utilisé pour les déterminations de toxicité, permet de calculer facilement la dose inhibitrice 50 %.

Numéro	Action anticholinestérasique exprimée en inhibition 50 % en μ g pour 5 ml	
	Pseudocholinestérase	Cholinestérase vraie
2070 bis H.C.	200	350
2070 H.C.	0,50	0,15
2071 H.C.	0,045	0,03
2072 H.C.	0,006	0,065

Discussion.

En ce qui concerne la pseudocholinestérase, le 2072 est le

plus actif, soit 7,5 fois plus que le 2071 et 83 fois plus actif que le 2070.

Le 2071 est lui-même environ 10 fois plus actif que le 2070. Le 2070, 400 fois plus actif que le 2070 *bis*.

Par ordre d'activité décroissante on peut écrire :

2072, 2071, 2070, 2070 *bis*.

Sur la *cholinestérase vraie*, c'est le 2071 qui est le plus actif : 2 fois plus que le 2072 et 5 fois plus que le 2070. Ici les différences d'activité sont moins marquées que pour la pseudo-cholinestérase. Le 2070 *bis* a une activité encore très éloignée de son homologue.

Par ordre d'activité décroissante :

2071, 2072, 2070, 2070 *bis*.

Comparaison des résultats entre les deux méthodes.

Avant de dresser des comparaisons, il faut souligner les différences expérimentales entre la méthode manométrique de Warburg et la méthode électrométrique de Michel. Ces différences sont les suivantes :

1) La température est de 20° pour la méthode électrométrique alors que dans le Warburg elle est de 38°.

2) Le pH du liquide de Ringer est voisin de 7, alors que les solutions tampon de Michel sont aux environs de 8..

3) Le milieu ionique est aussi très différent, par exemple présence de calcium dans le liquide de Ringer. Ce cation est absent de la solution tampon de Michel qui renferme par contre des ions phosphate et potassium.

4) La dilution finale de l'inhibiteur est différente d'une méthode à l'autre.

5) Dans la méthode de Warburg, le pH reste constant, alors qu'au pH mètre, il y a une variation importante de celui-ci.

Tous les facteurs que nous avons envisagés sont bien connus pour avoir une importance considérable dans la détermination de l'activité d'une enzyme. Cette activité varie avec la température, la zone de pH, d'autant plus que celui-ci varie au cours de l'expérience et le milieu ionique. Il est bien connu que le calcium joue un rôle de premier plan dans l'activation des processus enzymatiques.

Ces faits étant bien précisés, il est malgré tout permis de faire figurer sur un même tableau les chiffres donnés par chacune de ces méthodes.

Numéro conventionnel	Activité anticholinestérasique Inhibition 50 % en μg pour		
	5 ml dans la méthode électrométrique		1,6 ml dans la méthode de Warburg
	Cholin. vraie	Pseudochol.	Pseudocholinestérase
2070 bis H.C.	350	200	120
2070 H.C.	0,15	0,50	0,012
2071 H.C.	0,03	0,045	0,008
2072 H.C.	0,065	0,006	0,0016

Ce tableau montre la concordance des données des deux méthodes en ce qui concerne la *pseudocholinestérase*, ceci permet la comparaison des substances entre elles. Dans l'ordre d'activité décroissante on peut écrire :

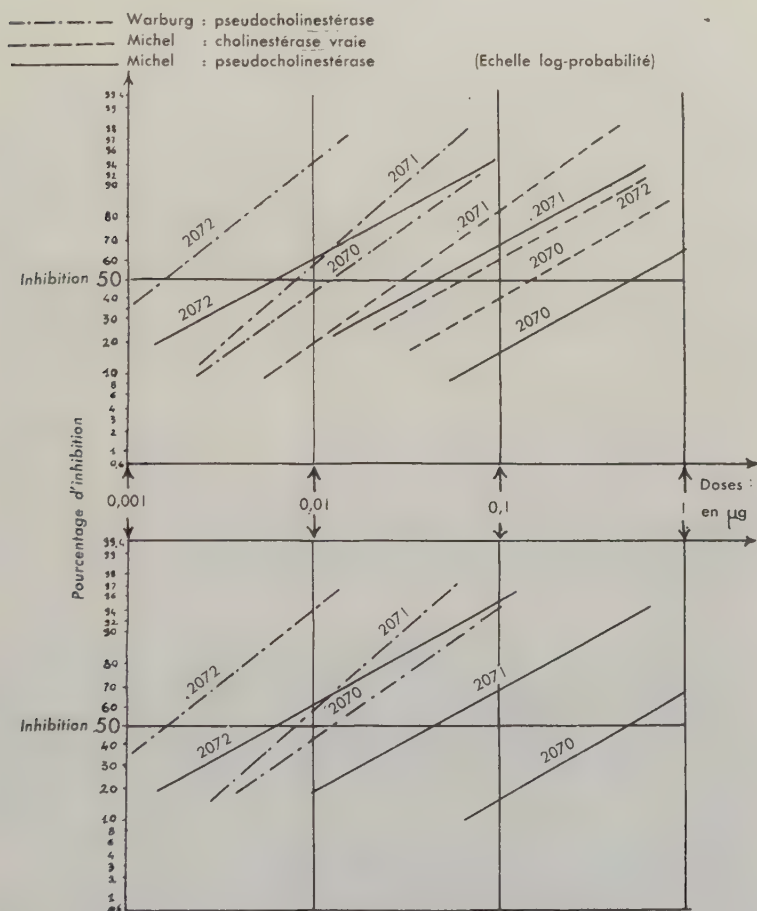
2072, 2071, 2070, 2070 bis.

Pour le même composé, il existe des différences d'action sur la *vraie cholinestérase* et la *pseudocholinestérase*.

Le tableau ci-dessous souligne les différences constatées.

Numéro conventionnel	Action plus marquée sur la	
	Pseudocholinestérase	Cholinestérase vraie
2070 bis H.C.		
2070 H.C.		
2071 H.C.		
2072 H.C.	+	

Les 2070 *bis* et 2072 se montrent plus actifs sur la pseudo-cholinestérase, alors que les 2070 et 2071 sont, au contraire plus actifs sur la cholinestérase vraie. Toutefois, s'il existe des différences d'action, elles sont, dans l'ensemble assez minimes. Pour le 2072, l'action est plus nettement différenciée. En effet, il est 10 fois plus actif sur la pseudo-cholinestérase que sur la vraie.



B — ACTION ANTICHOLINESTÉRASIQUE « IN VIVO »

GÉNÉRALITÉS

MAZUR et BODANSKY [88] ont été parmi les premiers à étudier l'inhibition des cholinestérases par les organophosphorés. Ils ont montré que ces toxiques, même à faible dose, inhibent les cholinestérases de l'animal. L'injection intra-veineuse de 0,3 mg/kg de D.F.P. à des lapins entraîne une importante diminution de l'activité enzymatique du sang. Les cholinestérases plasmatiques sont inactivées les premières. Celles des globules sont plus résistantes. Le pourcentage de l'inhibition, la vitesse avec laquelle elle s'établit, dépendent de la nature du toxique, de la voie d'introduction, mais aussi du tissu considéré. Certains toxiques ne deviennent des inhibiteurs qu'après avoir été transformés ; d'autres sont plus ou moins détruits par certains tissus. Le facteur de perméabilité doit également intervenir. C'est ainsi que l'O.M.P.A., même injecté dans la circulation, ne provoque qu'une inhibition très progressive des cholinestérases du muscle, du sérum, des globules, et laisse inchangées celles du cerveau, ce qui semble être dû à une incapacité de pénétration dans le tissu nerveux [32].

In vivo comme *in vitro*, l'action des organophosphorés sur les cholinestérases est assez spécifique. Peu de diastases sont sensibles à ces poisons, mais ces toxiques peuvent réagir avec quelques substances tissulaires, ou même être détruits. Ceci explique pourquoi un arrêt même temporaire de la circulation dans la région où est administrée le poison, atténue ses effets [44]. Au contraire, la toxicité est plus grande lorsque l'injection est faite dans la veine porte, que lorsqu'elle est pratiquée dans la circulation périphérique [58].

Il a été possible parfois d'établir une relation entre l'intensité de l'inhibition des cholinestérases tissulaires et celles des symptômes apparents. Après action du D.F.P., la mort ne survient chez le singe que lorsque l'activité cholinestérasique

sique du cerveau est complètement annulée. Ceci n'est vrai que lorsque les comparaisons ne portent que sur un seul toxique, mais quand on compare, comme l'ont fait HAGAN et FRAWLEY [42] l'action de plusieurs composés, le niveau des cholinestérases du cerveau, au moment où se manifestent des symptômes analogues, est loin d'être le même.

Après intoxication, la régénération des cholinestérases se produit avec une vitesse variable avec le toxique utilisé et le tissu considéré. Comme ce qui se passe *in vitro*, la régénération est relativement rapide, quel que soit le tissu considéré, lorsque l'inhibition a été provoquée par des composés qui, comme le T.E.P.P., se fixent sur l'enzyme de façon relativement peu irréversible. Mais pour des composés qui, comme le D.F.P., sont solidement liés à la diastase, la vitesse de régénération varie bien plus grandement d'un tissu à l'autre. L'activité du plasma augmente la première et dépend du bon fonctionnement des cellules hépatiques : la vitesse de régénération de l'activité globulaire pourrait être considérée comme nulle. Elle ne dépendrait que de la vitesse de régénération des globules. D'après MAZUR et BODANSKY [88], la régénération de l'activité cholinestérasique du cerveau est extrêmement lente.

Lacrymation pigmentée provoquée chez le Rat.

Une curieuse, mais intéressante, méthode de mesure de l'activité cholinestérasique *in vivo* a été proposée par BURGÉN [19] : on sait que l'injection de quantités suffisantes de produits muscariniques provoque chez le Rat la sécrétion de larmes rouges colorées par de la protoporphyrine avec de la coproporphyrine.

La dose d'acétylcholine nécessaire pour provoquer ce phénomène de chromodiacryorrhée est d'autant plus faible que les cholinestérases sont moins actives. En testant la sensibilité des animaux on peut estimer l'inhibition des cholinestérases après administration d'un anticholinestérasique.

Technique utilisée.

La technique originale de WINBURY et coll. [123] est proposée pour l'étude des parasymphaticolytiques.

L'injection par voie péritonéale de 0,25 ml pour 100 g d'une solution d'acétyl- β -méthylcholine à 0,4 %, entraîne chez le Rat, au bout d'un temps très court, une abondante lacrymation

colorée en rouge (présence d'un pigment rouge-brun : porphyrine).

Cette lacrymation s'accompagnant d'une importante sia-lorrhée, est vérifiée toutes les 30 secondes sur le même œil.

Chaque rat est testé deux fois à 30 minutes d'intervalle minimum :

- noter le temps d'apparition des larmes (10 à 30 sec.),
- intensité de la coloration (+, ++, +++),
- disparition des larmes (10 à 30 mn).

Il s'agit d'une réponse du tout ou rien.

Le test est prévu dans le sens suivant : injection préalable (15 mn auparavant), chez les rats testés d'un antise-crétoire parasympatholytique. On recherche l'inhibition plus ou moins complète de cet effet sous l'action de ces drogues.

Adaptation de la technique de Winbury.

Or, nous avons à étudier des substances qui renforcent au contraire l'action de l'acétylcholine.

Nous avons pensé, tout d'abord, réduire la dose d'acétyl- β -méthylcholine en utilisant une concentration de 0,1 %, puis de 0,05 %. On aurait pu concevoir la réalisation de ce test, en calculant la concentration d'acétyl- β -méthylcholine provoquant à coup sûr la lacrymation permettant de tester le rat au préalable. De plus, on pouvait déterminer par tâtonnement la dose infra-liminaire de ce même parasympathomimétique ne donnant le phénomène. Puis après l'imprégnation d'un inhibiteur des cholinestérases, voir apparaître, avec une dose de β -méthylacétylcholine ne provoquant pas seule la lacrymation, une réponse positive prouvant en quelque sorte le renforcement de l'activité acétylcholinomimétique.

Mais il nous a semblé très imprudent, après quelques essais, de s'en tenir à un phénomène négatif devenant brusquement positif à la suite de l'administration des produits à comparer. D'autre part, une telle technique permet d'envisager surtout l'aspect qualitatif de l'action des substances et assez peu l'aspect quantitatif qui nous intéresse particulièrement.

Les rats ont été testés deux fois à 30 minutes au moins d'intervalle avec une solution d'acétyl- β -méthylcholine à 0,05 %. Ceci nous a permis de voir que certains individus ne donnent pas de réaction positive après administration du parasympathomimétique et ne deviennent pas, pour autant,

positifs après imprégnation d'un organophosphoré de la série envisagée.

Sur les rats testés, on injecte par voie intrapéritonéale une dose de produit correspondant au 1/10 de la D.L.50 par kilogramme de poids.

Quinze minutes après, on pratique l'injection de β -méthyl-acétylcholine et on observe la réponse suivant le schéma proposé par WINBURY. Il faut remarquer que jamais nous n'avons constaté d'action propre pour les produits étudiés. L'essai a été pratiqué sur 30 rats.

Pour la comparaison de l'activité, nous avons retenu la prolongation de l'action lacrymante après l'organophosphoré qui augmente de façon très nette la durée d'action de l'acétyl- β -méthylecholine. Le temps d'apparition des larmes n'est, dans l'ensemble, pas diminué par rapport à la détermination témoin. De même, que l'intensité de la coloration qui ne semble pas être modifiée pour autant.

Résultats expérimentaux.

L'évaluation est faite en déterminant la différence du temps d'action chez le Rat ayant reçu le produit et le Rat témoin.

On constate que les valeurs moyennes observées peuvent se résumer ainsi :

Effet correspondant à l'injection du 1/10 de la D.L. 50 par kg de poids	
Numéro conventionnel	Prolongation de la durée d'action
2070 H.C.	4 mn 30
2071 H.C.	6 mn
2072 H.C.	10 mn

Il y a une progression d'activité très nette du 2070 au 2071 et au 2072. Les valeurs pour le 2070 et le 2071 sont d'ailleurs assez rapprochées, alors que le 2072 s'en écarte nettement.

Avec la toxicité aucun parallélisme, mais on peut faire un rapprochement avec la structure chimique. A toxicité égale, l'activité augmente avec l'accroissement du nombre d'atomes de carbone des radicaux substituants.

IV — RELATIONS ENTRE LA TOXICITÉ « IN VIVO » ET L'ACTIVITÉ INHIBITRICE DE LA CHOLINESTÉrase

Nous empruntons à HOLMSTEDT quelques considérations sur ce problème [59].

Dans les petites séries homologues où les déterminations enzymatiques et les déterminations de toxicité sont faites dans les mêmes conditions, une augmentation de l'activité d'inhibition enzymatique est associée à une toxicité plus grande. Cependant des discordances dans la relation entre les résultats obtenus *in vivo* et *in vitro* ne sont pas rares [21].

Cette relation paraît influencée par l'espèce, le sexe, les voies d'administration [17], la stabilité du composé et le taux de réaction avec la cholinestérase.

Il paraît aussi évident que le taux d'absorption du composé au lieu d'injection, le taux de détoxification et d'excrétion et la solubilité dans les lipides du système nerveux influencent les résultats *in vivo*. En allant plus loin, les effets secondaires peuvent être un processus toxique aussi important que l'activité anticholinestérasique.

Les valeurs de l'inhibition 50 % ne sont pas uniquement l'expression de l'affinité de l'inhibiteur pour l'enzyme ou de leur vitesse de réaction avec lui. JANDORF a remarqué avec ses collaborateurs [62] que les réactions secondaires expliquent pourquoi les organophosphorés inhibiteurs des cholinestérases ne produisent pas d'inhibition complète à toutes les concentrations supérieures à la concentration molaire des groupes d'enzyme actif. Cependant, même pour les composés relativement stables, non hydrolysés spontanément et inattaqués par les phosphorylphosphatases l'action d'inhibition enzymatique se termine en deux heures [115].

Tous ces facteurs rendent la relation entre l'inhibition 50 % (I_{50}) et la toxicité assez douteuse. Cependant les valeurs d' I_{50} semblent une meilleure base de prédiction rigoureuse de toxicité que la vitesse de réaction avec l'enzyme.

Numéro conventionnel	D.L. 50 souris		Activité anticholinestérasique exprimée en inhibition 50 %, dose en μg		
	mg/kg		pour 5 ml méthode de Michel		pour 1,6 ml au Warburg
	I.P.	I.V.	Cholinest. vraie	Pseudo-cholinest.	Pseudo-cholinest.
2070 bis H.C.	600		350	200	120
2070 H.C.	1,5	0,55	0,15	0,50	0,012
2071 H.C.		0,30	0,03	0,045	0,008
2072 H.C.	1,8	0,65	0,065	0,006	0,0016

Nous sommes ici dans les conditions citées plus haut par HOLMSTEDT, d'une petite série homologue où les déterminations d'activité enzymatique et toxicité sont faites dans les mêmes conditions.

L'ordre de *toxicité* décroissante s'écrit :

2071, 2070, 2072, 2070 bis.

Il faut remarquer pour la commodité des comparaisons que le 2070 et le 2072 ont des toxicités assez voisines. Il n'y a que sur la *cholinestérase vraie* que l'on retrouve un ordre d'activité se rapprochant le plus de la toxicité, soit :

2071, 2070, 2072, 2070 bis.

A l'approximation près de la toxicité du 2070 et 2072, on retrouve une activité parallèle entre la toxicité et l'action inhibitrice sur la cholinestérase vraie.

La méthode électrométrique et la méthode manométrique donnent sur la *pseudocholinestérase* l'ordre d'activité décroissante ci-dessous :

2072, 2071, 2070, 2070 bis.

Donc rien de parallèle à l'activité toxique, mais au contraire un rapport assez direct avec la constitution chimique.

V — CONSÉQUENCES DE L'INHIBITION DES CHOLINESTÉRASES

Cette inhibition devrait entraîner l'accumulation d'acétylcholine chez les animaux intoxiqués, puisque d'après les théories, cet ester est libéré continuellement dans l'organisme et en quantité d'autant plus grande que l'activité nerveuse est plus élevée. Mais l'activité hydrolysante des cholinestérases de l'animal est bien supérieure aux besoins physiologiques, de sorte que l'on peut se demander quel degré d'inhibition il faudrait atteindre pour obtenir une accumulation du médiateur chimique.

En réalité, cette accumulation se produit. Elle a été mise en évidence par STEWART [113], par DOUGLAS et PATON [31], par BARNES et DUFF [13]. La quantité d'ester retrouvée dans le sang ou le cerveau prélevés juste avant la mort d'animaux intoxiqués par le T.E.P.P., le D.F.P., le 2072 H.C., est hors de proportion avec celle trouvée chez les témoins. Dans le sang, l'acétylcholine n'est décelable qu'un certain temps après l'injection intraveineuse de T.E.P.P. ; sa teneur croît ensuite et devient maximum au bout de 5 minutes, puis elle décroît pendant 1 heure, temps au bout duquel on n'en trouve plus.

BARNES et DUFF, utilisant le 2072 (Paraoxon), ont constaté que si, chez le Lapin et le Chat, la quantité d'acétylcholine sanguine s'accroît tant qu'on répète l'administration du toxique et diminue ensuite, le Chien semble immunisé rapidement au Paraoxon, bien qu'il reste très sensible à l'action de l'acétylcholine.

Chapitre V

ACTION SUR L'APPAREIL CARDIO-VASCULAIRE

I — ACTION SUR LA PRESSION ARTÉRIELLE DU CHIEN

- a)* Généralités.
- b)* Etude expérimentale.

II — ACTION SUR LE CŒUR ISOLÉ DE GRENOUILLE

- a)* Technique utilisée.
- b)* Etude expérimentale.

I — ACTION SUR LA PRESSION ARTÉRIELLE DU CHIEN

A — GÉNÉRALITÉS

Nous avons relevé dans la littérature un certain nombre de données concernant l'action cardio-vasculaire des organophosphorés. Dans la mise au point de DELGA [30], il est dit que l'injection d'organophosphorés provoque un ralentissement cardiaque ; nous avons retrouvé cette action sur le cœur de Grenouille.

DELGA fait remarquer que le D.F.P., un prototype des organophosphorés ne provoque aucune bradycardie à des doses qui inhibent profondément les cholinestérases. Cette action ne se manifeste qu'à des doses bien plus élevées, ce qui peut faire douter des relations existant entre l'inhibition de l'enzyme et la bradycardie.

L'influence de l'action des zones chémo-sensibles du sinus carotidien sur la bradycardie doit être exclue [117]. Elle n'est pas non plus levée par bivagotomie, comme nous l'avons constaté. La bradycardie est levée partiellement par le Tétra-éthylammonium, le Pendiomide ou l'Hexaméthonium, mais elle est totalement abolie par l'atropine, ce qui prouve que ces poisons ont une action à la fois excitante nicotinique sur les ganglions parasympathiques cardiaques et une action plus périphérique.

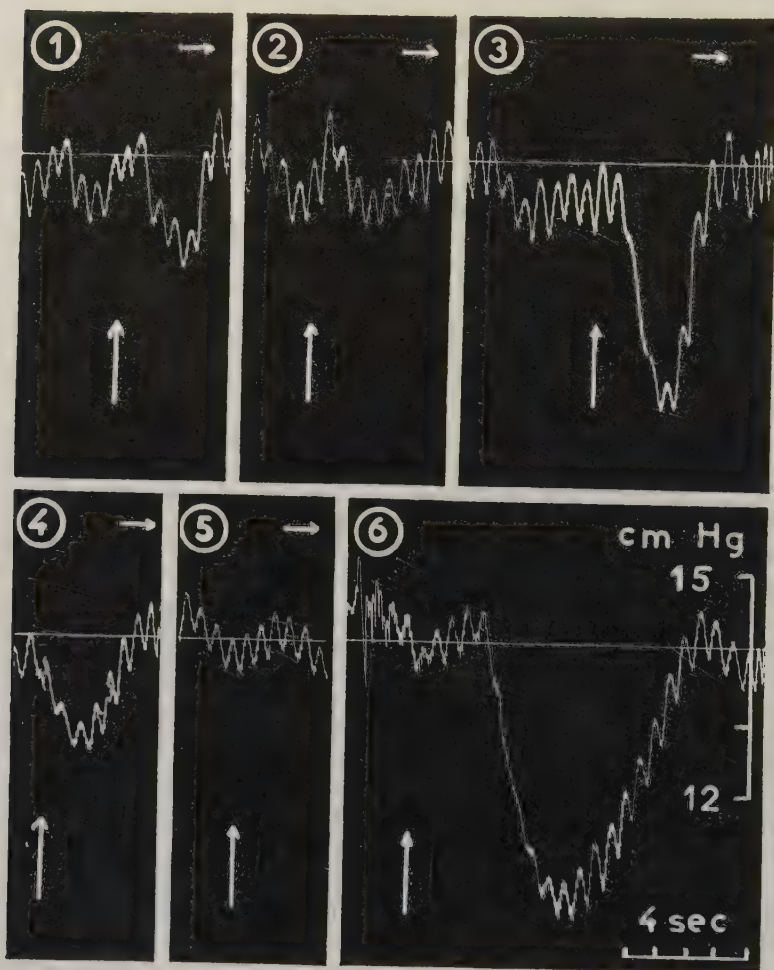
L'action sur la tension se traduit généralement par une baisse de celle-ci. Cependant certains organophosphorés et en particulier le T.E.P.P. peuvent provoquer de l'hypertension.

B — ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

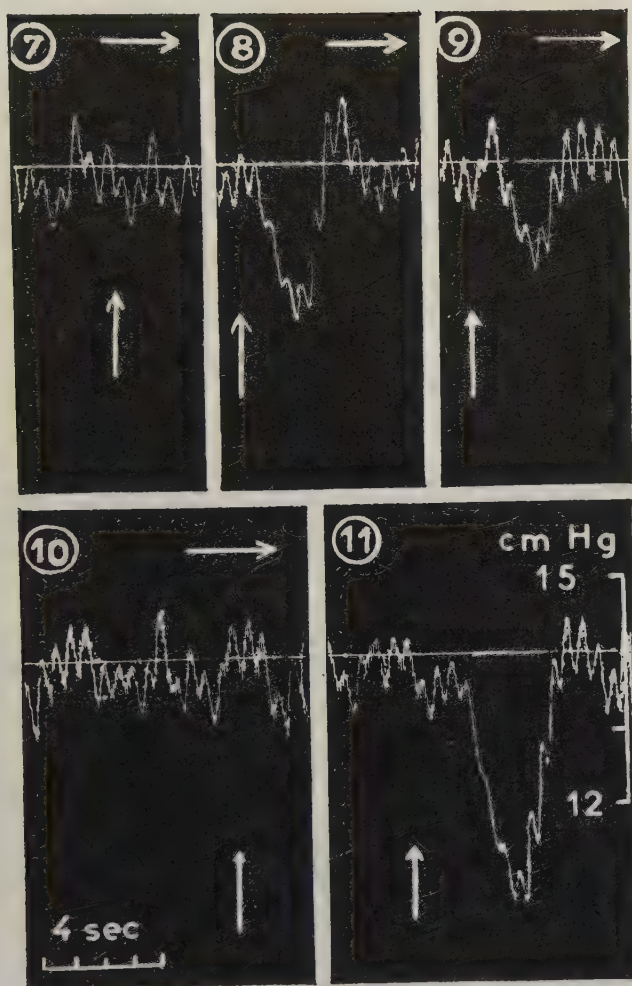
La pression artérielle est mesurée sur le Chien anesthésié au chloralose et placé en respiration artificielle.

La durée des expériences étant la plupart du temps très longue, l'anesthésie est complétée par le mébubarbital injecté en cours d'expérience.

Action d'une même dose : 10 $\mu\text{g/kg}$ sur la
PRESSION ARTÉRIELLE du CHIEN



1. Acétylcholine : 1 $\mu\text{g/kg}$
2. 2070 H.C. : 10 $\mu\text{g/kg}$
3. Acétylcholine : 1 $\mu\text{g/kg}$
4. Acétylcholine : » (retour à la normale)
5. 2071 H.C. : 10 $\mu\text{g/kg}$
6. Acétylcholine : 1 $\mu\text{g/kg}$



- 7. 2072 H.C. : 10 $\mu\text{g/kg}$
- 8. Acétylcholine : 1 $\mu\text{g/kg}$
- 9. Acétylcholine : » (retour à la normale)
- 10. Esérine : 10 $\mu\text{g/kg}$
- 11. Acétylcholine : 1 $\mu\text{g/kg}$

La pression est mesurée à l'aide d'une canule placée dans la carotide et reliée au manomètre de LUDWIG.

L'administration des produits en solution dans le soluté physiologique est pratiquée dans la veine saphène extériorisée.

1) Action propre.

Numéro conventionnel	Doses injectées en $\mu\text{g/kg}$
2070 <i>bis</i> H.C.	40, 80, 120, 200, 400, 650
2070 H.C.	55 et 110
2071 H.C.	30 et 60
2072 H.C.	65 et 130

Aucun de ces produits ne possède d'action propre pour des doses correspondant respectivement au 1/10 et au 1/5 de la D.L. 50.

Pour le 2070 *bis* l'injection du 1/10 de la D.L. 50 aurait nécessité une dose de 20 mg/kg, or il est impossible de réaliser une solution aqueuse aussi concentrée à cause de la faible solubilité du produit dans l'eau.

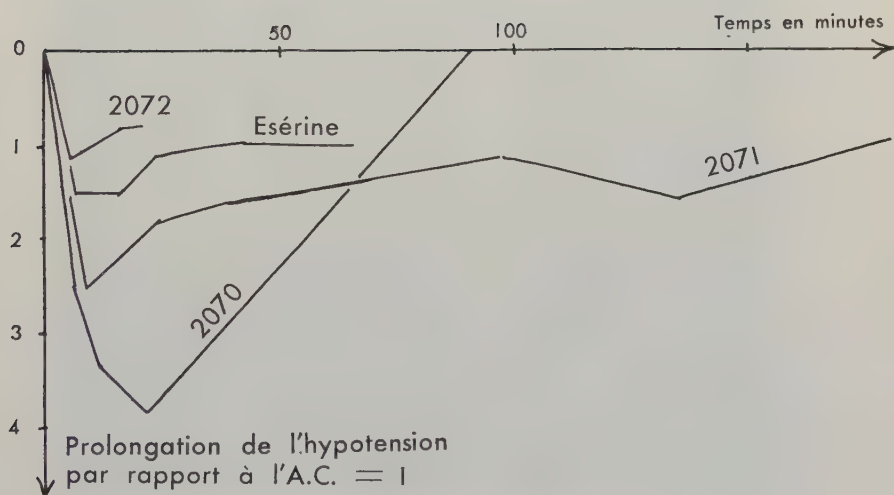
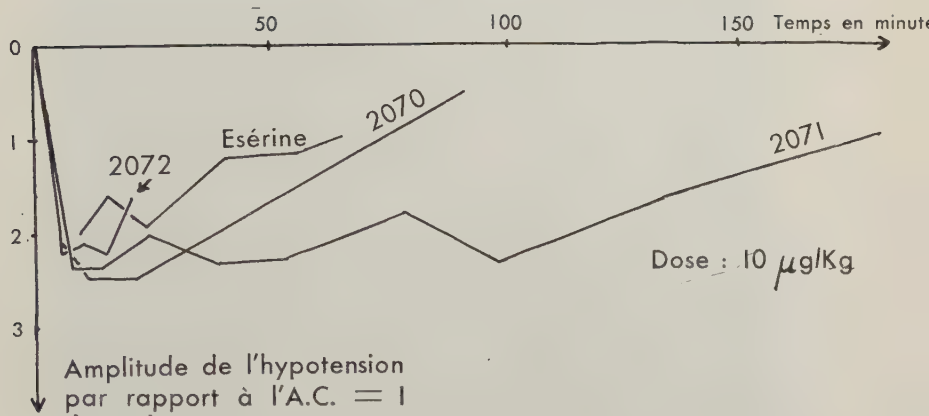
2) Effet d'une même dose sur la pression artérielle.

La dose envisagée est de 10 $\mu\text{g/kg}$. Pour comparer les effets, on peut tenir compte d'une part, de l'intensité de l'hypotension provoquée par une dose d'acétylcholine qui voit son effet renforcé après injection des corps de cette série.

Amplitude de l'hypotension :

Sur un graphique, figurent en abscisses le temps en minutes et en ordonnées, le pourcentage d'augmentation de l'hypotension par rapport à l'effet de l'acétylcholine seul. Cette représentation n'a pas une grande valeur du point de vue pharmacodynamique, mais elle a l'avantage de permettre plus facilement les comparaisons.

L'effet maximum se situe entre la 5^e et la 20^e minute ;



l'intensité de cet effet est à peu près le même pour chacun des trois organosphosphorés. Mais ce qui les différencie c'est la prolongation de l'effet hypotenseur par l'intermédiaire de l'acétylcholine :

— le 2071	prolonge son action jusqu'à la 180 ^e minute,		
— le 2070	—	—	90 ^e —
— le 2072	—	—	50 ^e —

Cette expérience ayant été réalisée chez le même Chien, permet d'établir un ordre d'activité décroissante qui serait le suivant :

2071, 2070, 2072.

L'objection qu'on peut formuler à l'égard de l'essai sur le même animal est bien entendu la superposition des doses, mais avant l'injection du produit suivant nous avons attendu que l'hypotension soit revenue au niveau initial de l'action propre de l'acétylcholine.

Prolongation de l'hypotension :

En se plaçant du point de vue de l'effet protecteur sur l'acétylcholine injectée, il existe, après administration de ces produits, un élargissement sur le tracé de la durée de l'hypotension.

Il y a lieu de penser qu'il s'agit d'un effet en relation étroite avec l'inhibition des cholinestérases. On retrouve le même ordre d'activité décroissante que pour l'amplitude de l'effet, soit :

2071, 2070, 2072.

Conclusion.

Pour une dose identique, on retrouve des effets qui sont parallèles au degré de toxicité.

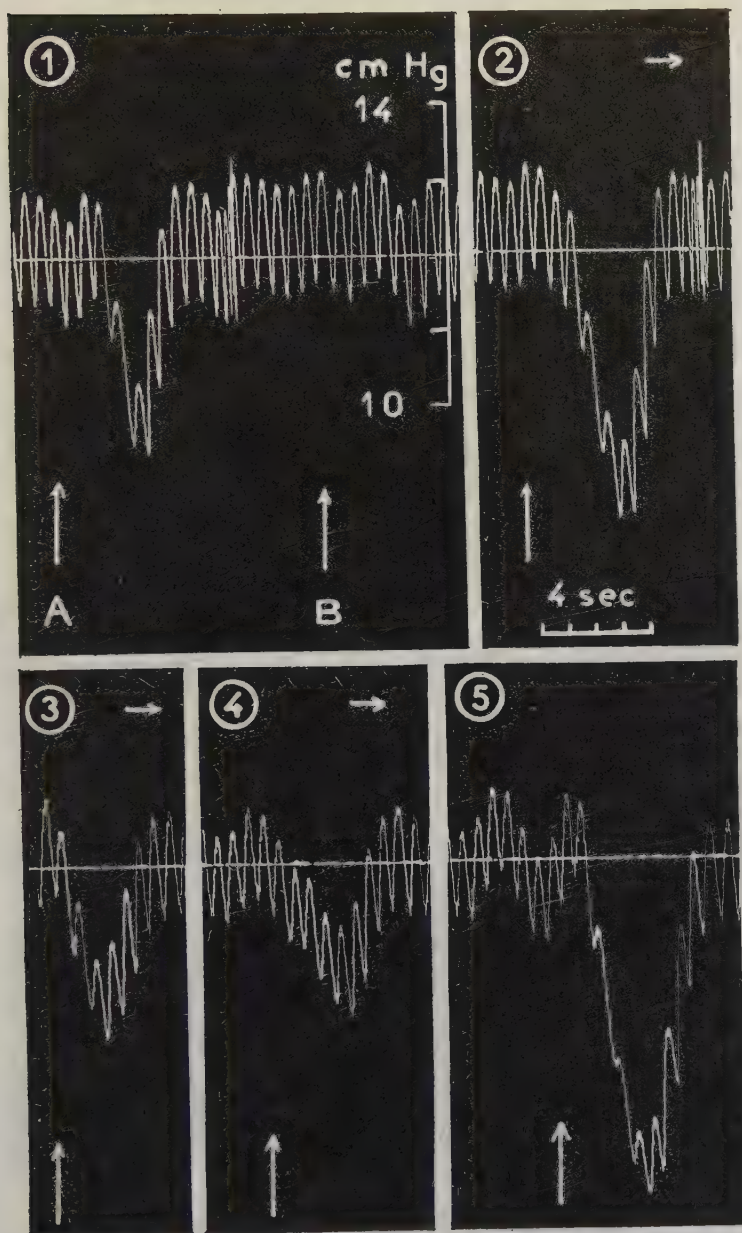
Comparaison avec l'ésérine utilisée à la même dose.

L'effet de l'ésérine à 10 $\mu\text{g/kg}$ semble légèrement inférieur à l'effet des trois substances injectées à la même dose, toutefois cette différence est assez faible. Le 2070 se rapproche le plus de l'ésérine. Il semble que sur cet essai l'effet du 2070 soit comparable à celui de l'ésérine pour une dose équivalente.

3) Effet de la dose correspondant au 1/10 de la D.L. 50.

On peut envisager ici également l'amplitude de l'effet, d'une

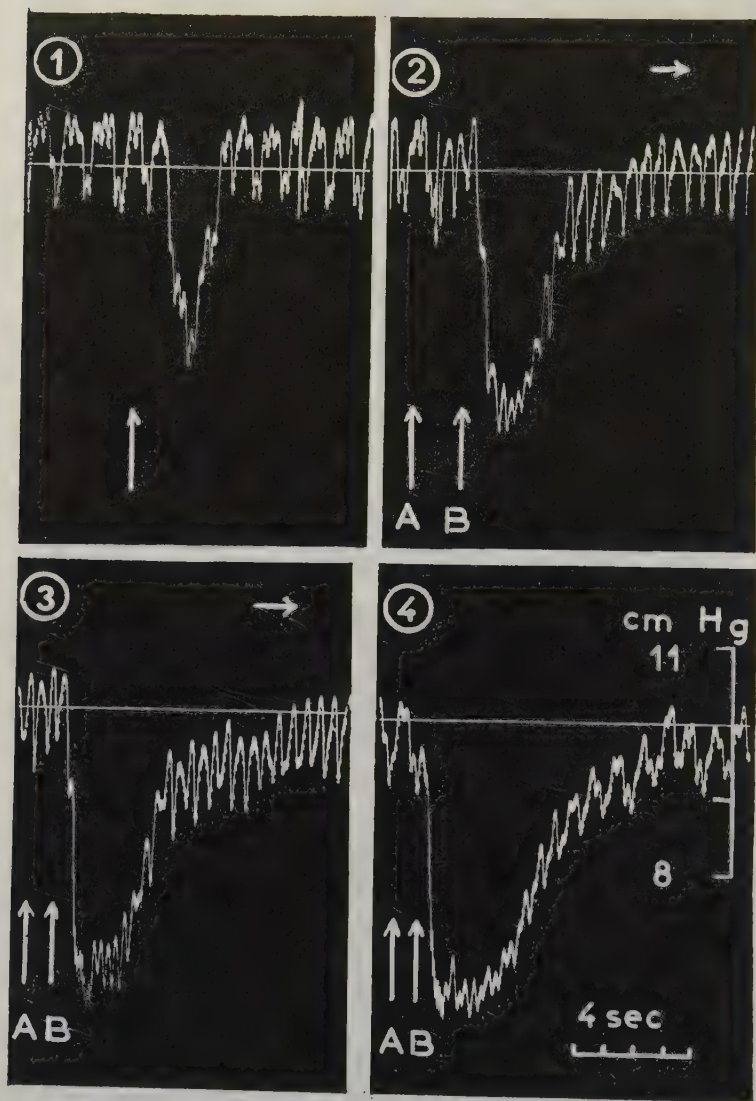
**Action du 1/10^e de la D.L. 50 sur la
PRESSION ARTÉRIELLE du CHIEN**



Intensité de l'hypotension

1. - A : acétylcholine : 0,25 $\mu\text{g/kg}$
 - B : 2071 H.C. : 30 $\mu\text{g/kg}$
2. - acétylcholine : 0,25 $\mu\text{g/kg}$
3. - 2 h. après : acétylcholine : 0,25 $\mu\text{g/kg}$
4. - 2072 H.C. : 65 $\mu\text{g/kg}$
5. - acétylcholine : 0,25 $\mu\text{g/kg}$

Action du 1/10^e de la D.L. 50 sur la PRESSION ARTÉRIELLE du CHIEN



Prolongation de l'hypotension

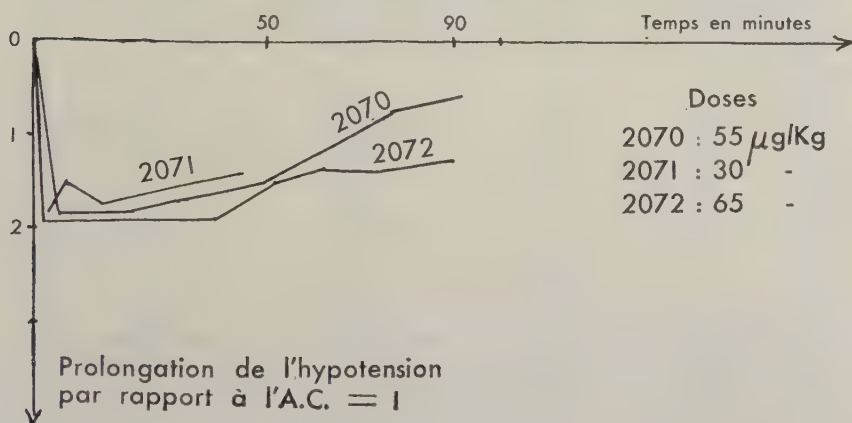
1. - Acétylcholine : 1 μ g/kg
2. - A : 2070 H.C. : 55 μ g/kg
B : acétylcholine 1 μ g/kg
3. - A : 2071 H.C. : 30 μ g/kg
B : acétylcholine : 1 μ g/kg
4. - A : 2072 H.C. : 65 μ g/kg
B : acétylcholine : 1 μ g/kg

part, et la durée de protection de l'acétylcholine, d'autre part.

Disons tout de suite qu'en ce qui concerne le *pouvoir protecteur de l'acétylcholine*, les trois dérivés donnent des résultats assez groupés, qu'on peut représenter également sur un graphique, en portant en abscisses le temps et en ordonnées la prolongation de la durée de l'hypotension par rapport à l'acétylcholine (dont l'effet est pris pour unité).

Les doses utilisées paraissent trop fortes pour détecter des variations d'effets d'une substance à l'autre.

La protection de l'acétylcholine semble être obtenue à partir d'un certain seuil largement dépassé avec ces doses.



Au point de vue de l'intensité de l'hypotension, l'interprétation du tableau permet de voir que l'effet maximum pour les trois composés se situe approximativement entre la 10^e et la 20^e minutes.

L'ensemble des résultats expérimentaux permet de dire que le 2072 se place en tête, pour son activité et pour la prolongation de la durée des effets. Puis viennent par ordre d'activité décroissante le 2071 et le 2070. Il faut signaler que l'expérimentation est considérablement gênée par la durée d'action des produits, la plupart du temps on ne peut injecter chez le même chien que deux produits différents. Ce n'est qu'exceptionnellement qu'on peut comparer ces trois substances sur le même animal, mais une telle expérience pose toujours le problème du risque d'accumulation des effets inhibiteurs.

Conclusion.

On peut écrire par ordre d'activité décroissante :

2072, 2071, 2070.

A toxicité égale, l'activité des produits dépend étroitement de la structure chimique, c'est-à-dire de l'augmentation du nombre d'atomes de carbone dans les radicaux alcoyles.

4) Cas particulier du 2070 bis.

Non seulement ce dérivé ne possède pas d'action propre, mais on ne constate aucune action cardio-vasculaire jusqu'à 650 $\mu\text{g/kg}$. Cette dose est faible comparée à la D.L. 50 de ce composé, mais il n'a pas été possible d'injecter de plus fortes quantités à cause de la faible solubilité dans l'eau.

PRESSION ARTÉRIELLE DU CHIEN - RÉSULTATS

Nature du composé	Doses en $\mu\text{g/kg}$	Injection d'Ac après un temps	Augmentation de l'hypotension par rapport à Ac = 1	Augmentation de la durée de l'hypotension par rapport à Ac = 1
Esérine 2070	10	6 mn		2
	10	6 —	2,15	2,5
2071	10	11 —	2,45	3,25
		21 —	2,45	3,75
		90 —	1	
		8 —	2,35	2,5
		13 —	2,35	2,3
		23 —	2	1,8
		38 —	2,32	1,6
		53 —	2,26	1,5
		78 —	1,80	1,3
		98 —	2,32	1,1
		133 —	1,67	1,6
		180 —	1	1
Esérine	10	6 —	2,15	1,5
		15 —	1,67	1,5
		23 —	1,87	1,12
		40 —	1,2	1
		55 —	1,14	1
		65 —	1	1
2072	10	5 —	2,2	1,1
		10 —	2,1	1
		15 —	2,45	
		20 —	1,6	
2072	65	3 mn	1,9	2,4
		12 —	2,25	2,4
		27 —	1,75	2,2
		42 —	1,4	1,8
		57 —	1	1
	100	62 —	1	1
		5 mn	2,8	2
		15 —	2,8	2
		25 —	2,8	2
		35 —	2,8	1,5
Esérine	100	45 —	2,5	1,5
		55 —	2,1	1,5
2071	30	3 mn	1,6	1,85
		6 —	1,4	1,55
		15 —	1,6	1,7
		30 —	1,4	1,55
		45 —	1,2	1,4
		60 et 75 mn	1	1
2072	65	2 mn	2,25	1,9
		19 —	2,25	1,9
		38 —	2,15	1,9
		52 —	2	1,5

Nature du composé	Doses en $\mu\text{g/kg}$	Injection d'Ac après un temps	Augmentation de l'hypotension par rapport à Ac = 1	Augmentation de la durée de l'hypotension par rapport à Ac = 1
2072 (suite)		62 — 74 — 90 — 100 —	2 2 1,75 1	1,3 1,3 1,25 1
2070 5 mn	55 110	5 mn 20 — 50 — 75 — 90 —	3,7 3,5 2,4 1,75 1,95	5,5 5,5 4,5 2,5 2
2071 2071	30 60	4 — 3 — 5 —	1,6 2 2	1,55 3,5 3,5
2072 2071 2070	10 10 10	2 mn 7 — 17 — 2 — 10 — 15 — 20 — 26 — 4 — 6 — 15 —	2,9 2,9 2,9 2,4 2 1,65 1 1 1,6 1,6 1,5	2,2 2,2 2,2 1,8 1,65 1,65 1,65 1,3 1,3 1,3
Esérine	10			
2071 2070	20 20	5 mn 10 — 15 — 20 — 30 — 40 — 50 — 60 — 75 — 5 — 15 — 25 — 40 — 50 —	1,35 1,25 1,3 1,45 1,35 1,5 1,35 1,45 1,4 1 1,1 1 1	2,4 1,8 1,4 2 2,4 2,4 2 2,2 2 2,25 2,1 2 2 1,5
2070 2071 2072	55 30 65	5 mn 15 — 10 — 25 — 40 — 5 —	1 1 1,2 1,1 1 1,1	1,65 3,55 2 1,5

Nature du composé	Doses en $\mu\text{g/kg}$	Injection d'Ac après un temps	Augmentation de l'hypotension par rapport à Ac = 1	Augmentation de la durée de l'hypotension par rapport à Ac = 1
2070	55	Pas d'action propre		
2072	65	—	—	
2070	110	—	—	
2072	130	—	—	

Les résultats des expériences ont été groupées par animal, et l'ordre de citation des composés correspond à l'ordre chronologique dans lequel ces substances ont été injectées chez le même Chien, après retour à la normale de l'hypotension à l'acétylcholine.

II — ACTION SUR LE CŒUR ISOLÉ DE GRENOUILLE

A — TECHNIQUE UTILISÉE

Sur une grenouille décapitée, ayant servi au prélèvement du « rectus abdominis » par exemple, on prépare le cœur en organe isolé selon la méthode de STRAUB.

Une canule est introduite dans l'aorte et permet de perfuser à contre-courant le cœur avec un liquide physiologique comme le liquide de Ringer servant pour le « rectus abdominis » :

Chlorure de sodium	6,5 g
Chlorure de potassium	0,14 g
Chlorure de calcium anhydre	0,12 g
Phosphate monosodique	0,02 g
Carbonate acide de sodium	0,30 g
Eau distillée	Q.S. 1 l

La pointe du cœur est reliée par un fil à un dispositif enregistrant les contractions du cœur. On peut étudier de cette manière l'amplitude et la fréquence cardiaque.

Une précaution importante est à respecter, il faut maintenir constant le niveau du liquide qui perfuse le cœur pour enregistrer un tracé qui ne soit pas fonction de la hauteur de la colonne qui surmonte le cœur.

B — RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

Un essai préliminaire nous avait montré l'absence d'action propre des composés organophosphorés envisagés, aussi avons-nous recherché l'action renforcatrice sur l'effet de l'acétylcholine.

1) Mode opératoire.

La pratique des essais est très simple, elle consiste à ajouter au liquide de perfusion maintenu à un volume constant une quantité définie, soit de l'acétylcholine en solution aqueuse,

soit du composé, lui aussi, en solution aqueuse, amenés sous le plus faible volume possible.

Si on envisage l'action renforçatrice sur l'acétylcholine, l'essai se pratique en testant l'activité d'une certaine dose d'acétylcholine qui provoque un ralentissement cardiaque et une diminution de l'amplitude. On procède ensuite à l'élimination de l'acétylcholine en remplaçant cinq fois de suite le liquide de perfusion par du liquide de Ringer. Puis addition au bain du produit à essayer et stimulation à intervalles réguliers par l'acétylcholine qui voit son action renforcée.

Pour des doses plus fortes les composés possèdent une action propre qui est comparée à l'effet de l'acétylcholine employée en quantité connue. Les lavages dans ce cas sont très nombreux pour essayer de défixer le plus possible ces substances.

2) Expérience avec le 2071.

Le tableau ci-joint montre que le 2071 possède une action propre à la dose de $0,25 \mu\text{g}$, dose qui entraîne un arrêt cardiaque dans un délai très court.

Pour l'action renforçatrice, on observe qu'il y a un renforcement effectif à 9 mn 30, alors qu'il ne s'observe pratiquement pas vers 2 mn 30.

L'action de $0,05 \mu\text{g}$ de 2071 semble avoir le même effet ou même un effet plus intense que $0,025 \mu\text{g}$ d'acétylcholine.

Doses en μg	Pourcentage de diminution de l'amplitude	Durée de l'effet mesuré en cm
Ac : 0,025 Ac : 0,025	36 % 43 %	1 1
2071 : 0,25 2071 : 0,05 après 2 mn 30 de contact Ac : 0,025 après 9 mn 30 Ac : 0,025	100 % 34 % 53 % 66 %	0,5 2,5 1 0,5
Ac : 0,025 2071 : 0,05	22 % 58 %	2,2 2,3
Ac : 0,25 2072 : 10 après 10 mn Ac : 0,25	40 % 0 % 41 %	0,2 0,3
2072 : 25 5 mn après Ac 18 — — 25 — — 55 — — 105 — —	0 % 60 % 75 % 90 % 77 % 64 %	 0,5 0,5 0,3 0,4 0,5

3) Expérience avec le 2072.

D'après les chiffres figurant sur le tableau précédent le 2072 n'a pas d'action propre pour les doses de 10 et 25 μg . Mais il renforce l'acétylcholine après 5 minutes de contact entre le cœur et l'inhibiteur des cholinestérases. Cette action va en s'amplifiant jusqu'à la 55^e minute, puis retour vers 105 minutes sensiblement au point de départ.

4) Action sur la même préparation.

Doses en μg	Pourcentage de diminution de l'amplitude	Durée de l'effet mesuré en cm
2070 : 0,05 2070 : 5	0 % 0 %	
2070 : 25	46 %	2,3
2072 : 25	45 %	1,3
2071 : 25	100 %	1
2070 : 25	74 %	0,8
2071 : 25	72 %	1
2072 : 25	100 %	0,5
2070 bis : 25	78 %	1
Ac : 0,5	100 %	0,1

Nous avons étudié ici uniquement l'action propre de ces organophosphorés.

Il semble que le 2071 soit à classer en tête au point de vue de l'intensité des effets et de la vitesse d'action, puis vient ensuite le 2072 qui possède une rapidité d'action plus grande que le 2070. Par ordre d'activité décroissante, on peut écrire :
2071, 2072, 2070.

Mais cette expérience appelle quelques remarques, sur une même préparation il y a d'abord eu addition préalable de 0,05 μg 2070, puis de 5 μg du même produit. D'autre part, les additions successives des produits dans l'ordre figurant sur le tableau risquent de faire attribuer au dernier produit l'effet le plus intense, qui ne serait que le résultat d'une accumulation. Mais comme il ne s'agit pas ici d'une sensibilisation à l'acétylcholine, mais d'une action propre des produits, on peut admettre qu'entre chaque addition l'amplitude car-

diague ayant repris sa valeur normale après des lavages appropriés, il n'y a pratiquement pas d'effet cumulatif. Dans la première expérience le cœur est sensible à l'action propre des produits, alors que précédemment, pour la même dose de 2072, on n'observait pas cette action. Les variations de sensibilité sont grandes d'un animal à l'autre.

La deuxième partie du tableau montre une autre expérience réalisée avec les quatre composés. La lecture des résultats montre qu'ici le 2072 possède l'action la plus intense et la plus rapide. Les 2071 et 2070 ayant au contraire des actions comparables en intensité et en vitesse d'action.

Il faut bien remarquer que la préparation dans ce cas particulier est extrêmement sensible à l'acétylcholine, mais celle-ci a été ajoutée en fin d'expérience, donc sur une préparation déjà largement sensibilisée. Le 2070 *bis* montre ici paradoxalement une action aussi intense que le 2070 et 2071, ce que ne permettait pas d'entrevoir l'étude de la toxicité. Il y a tout lieu de penser qu'il s'agit d'une préparation extrêmement sensible, rendant difficile l'interprétation de l'action comparée des produits.

De plus, il subsiste le problème de l'accumulation possible des produits ajoutés successivement malgré les lavages qui permettent un retour apparent à la normale.

Chapitre VI

ACTION sur la FIBRE MUSCULAIRE STRIÉE

I — ACTION SUR LE RECTUS ABDOMINIS DE GRENOUILLE

- a)* Généralités,
- b)* Etude expérimentale.
- c)* Interprétation des résultats.
- d)* Relations avec la toxicité et l'activité anticholinestérasique.

II — ACTION SUR LA TRANSMISSION NEURO- MUSCULAIRE

- a)* Généralités.
- b)* Effets sur l'animal entier.
- c)* Montage nerf-muscle.
- d)* Description de la préparation.
- e)* Avantages du montage neuro-musculaire.
- f)* Etude expérimentale.

I — ACTION SUR LE RECTUS ABDOMINIS DE GRENOUILLE

Ce test décrit par GARCIA DE JALON est simple et facilement réalisable. Le rectus abdominis est isolé et monté dans un bain de Ringer bicarbonaté et aéré. Un dispositif myographique permet l'enregistrement des contractions provoquées par l'acétylcholine. Il est indispensable de laisser la préparation au repos pendant une heure avant de commencer les expériences.

A — TECHNIQUE D'ÉTUDE

La cuve à organe isolé a un volume de 10 ml.

Avant chaque essai de produit, la préparation est testée avec une dose convenable d'acétylcholine de manière à obtenir une amplitude de contraction qui soit identique d'un essai à l'autre.

On laisse agir l'acétylcholine sur l'organe pendant 2 minutes, puis on lave quatre fois de suite pour revenir au niveau de départ.

Pour tester l'activité des composés, étant donné que ceux-ci aux doses faibles n'ont pas d'action contracturante, il est nécessaire de passer par l'intermédiaire de l'acétylcholine.

Le problème s'est posé de savoir au bout de combien de temps de contact entre l'inhibiteur et l'organe, il fallait ajouter la quantité d'acétylcholine dont l'effet propre a été déterminé au préalable.

Il faut un temps de contact minimum de 5 minutes pour observer un renforcement de l'action de l'acétylcholine. D'après les essais effectués, il semble que l'optimum de contact, soit d'environ 15 minutes ; ce phénomène a déjà été mis en évidence à propos de la détermination de l'inhibition de l'activité cholinestérasique par la méthode électrométrique de MICHEL où le temps de contact optimum est 30 minutes.

L'exemple suivant met en évidence cette condition expérimentale :

	Hauteur de la contraction en millimètres	Pourcentage d'augmentation
5 μ g Acétylcholine	12	
20 μ g 2071	0	
5 mn de contact	21	75
10 — —	25	108
15 — —	27	125

L'expérience se déroule de la façon suivante : une dose unique de produit est ajoutée au contenu de la cuve non suivie de lavage laissée en contact 15 minutes. Puis, après ce délai préliminaire, nouvelle addition d'acétylcholine et enregistrement de la contraction. Après les 2 minutes d'action de l'acétylcholine on lave quatre fois.

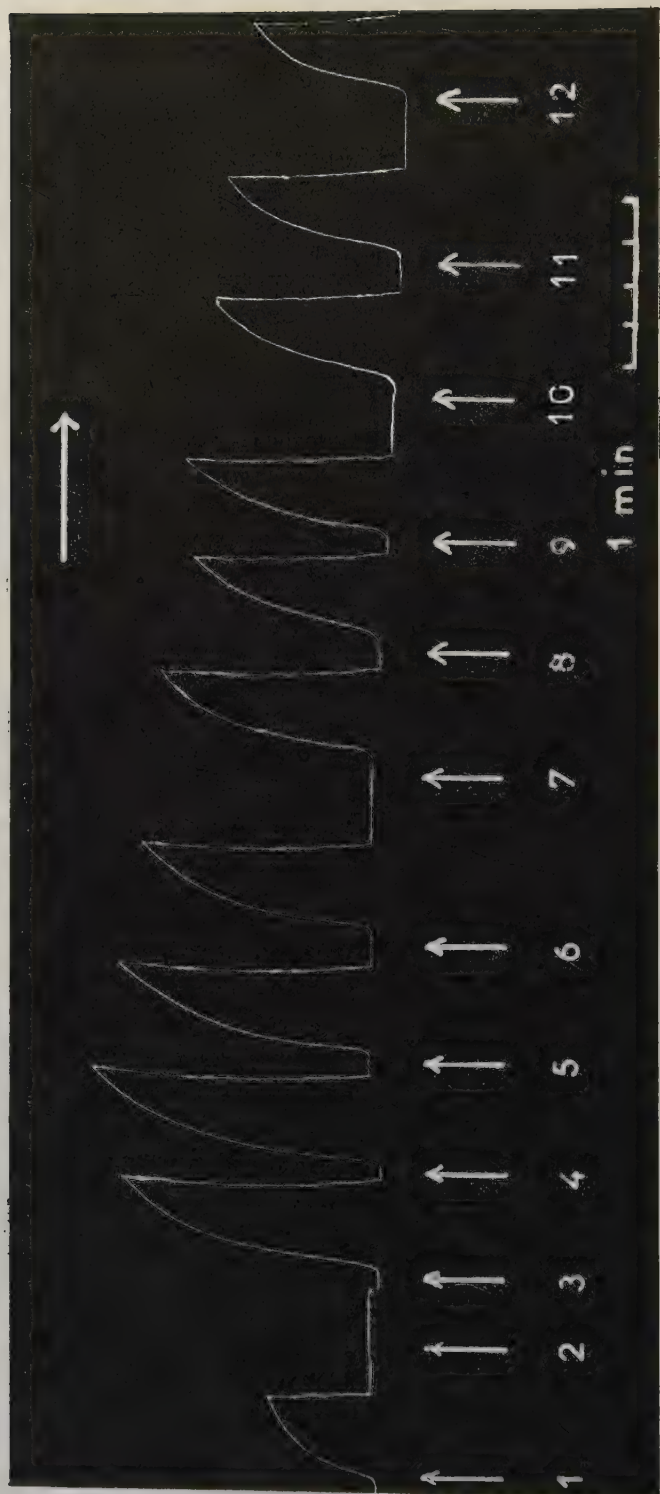
La préparation est ainsi testée à intervalles réguliers (en général 15 mn) jusqu'au retour de l'amplitude de la contraction à sa valeur de départ.

B — EXEMPLE DES EFFETS ENREGISTRÉS POUR LE 2071

Toutes les 15 minutes, on ajoute à la cuve la même dose d'acétylcholine.

Sur ce tracé obtenu en ajoutant au bain une dose de 5 μ g (soit une concentration de 0,5 μ g/ml) de 2071 H.C., l'amplitude maximum s'observe à la 30^e. minute et décroît régulièrement. L'action renforçatrice est intense, comme on peut le voir dès la première stimulation, mais ne s'observe bien qu'à la condition de réaliser un temps de contact suffisant. La fixation du 2071 et des autres corps de la série est très forte ; par exemple, l'action est encore très nette à la 150^e minute, et ceci malgré les lavages répétés après chaque addition d'acétylcholine.

RECTUS ABDOMINIS de GRENOUILLE

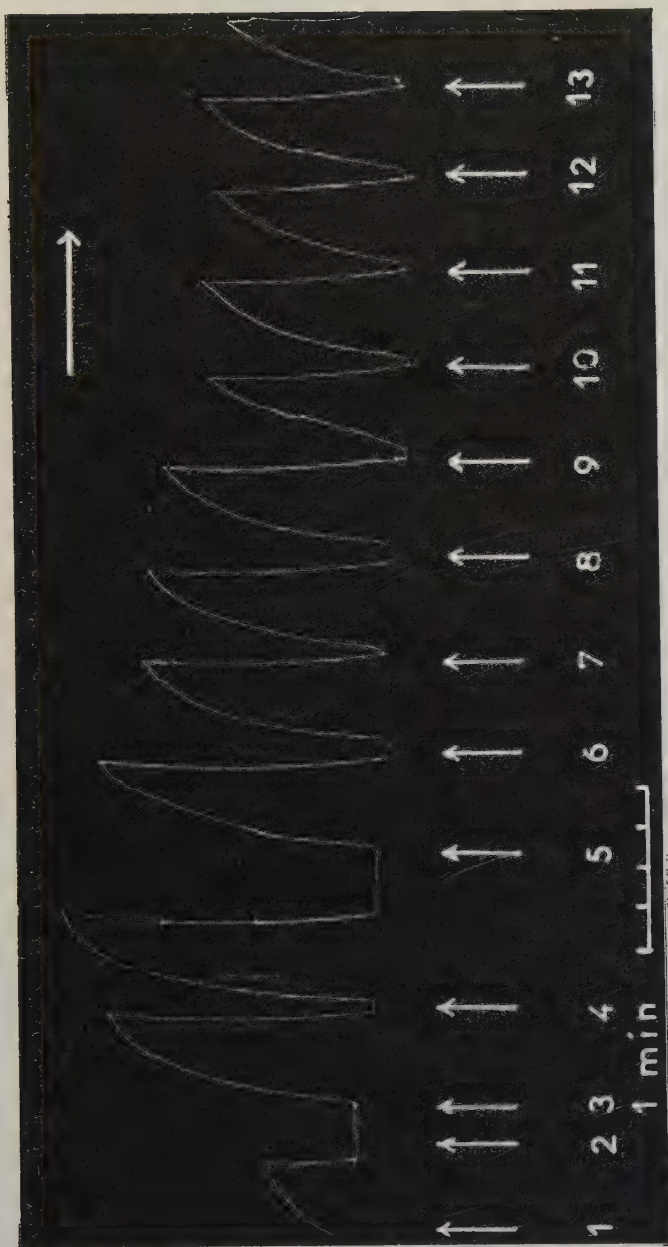


1. - Acétylcholine : 5 μ g.

2. - 2071 H.C. : 5 μ g.

3. - Après un temps de contact de 15 minutes de la préparation avec l'inhibiteur des cholinestérases, on ajoute au bain : acétylcholine : 5 μ g.

4. - à 12. : Toutes les 15 minutes : acétylcholine 5 μ g.



- 1, - Acétylcholine : $5 \mu\text{g}$
 2. - T.E.P.P. : $10 \mu\text{g}$
 3. - Après un temps de contact de 15 minutes, on ajoute au bain : acétylcholine : $5 \mu\text{g}$
 4. à 13 : Toutes les 15 minutes : acétylcholine : $5 \mu\text{g}$

Dans le tableau des résultats expérimentaux, on peut relever un autre exemple pour le 2071 à la dose de 10 μg , le retour à la contraction initiale n'est réalisé qu'après 165 minutes.

Remarque.

Des stimulations à intervalles plus rapprochés auraient vraisemblablement raccourci la durée d'action de ces produits. Mais 15 minutes nous ont paru nécessaires pour que la préparation revienne tout à fait à son niveau de départ. En effet, on constate que la contraction correspond à une véritable tétanisation qui demande un certain temps pour disparaître.

Nous avons utilisé le T.E.P.P. comme substance de comparaison.

C — INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Action propre.

On observe un effet contracturant des produits utilisés seuls qu'à de très fortes doses. Ces actions ne figurent pas sur les tableaux.

3 mg/10 ml de 2070 *bis* donnent une amplitude ne représentant que le 1/10 de l'effet de 2 μg d'acétylcholine (amplitude en mm : 10).

Le 2072 possède une action propre à partir de 2 mg/10 ml, plus nette avec 3 mg.

Très légère action du 2071 à 3 mg/10 ml. Il en est de même pour le 2070. L'action propre ne se manifeste qu'à des doses très fortes qui sont des doses toxiques.

Potentialisation des effets de l'acétylcholine.

À la lecture des résultats expérimentaux, on constate que le 2070 et le 2072 à la concentration de 0,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ n'ont pratiquement pas d'action.

Le 2071, par contre, est très actif à cette dose de 0,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Le 2072 ne devient nettement actif qu'à partir de 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$, alors que le 2070 ne se montre actif qu'à une dose de 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Le T.E.P.P. ayant servi d'élément de comparaison possède, à concentration égale, une activité nettement supérieure au plus actif d'entre eux : le 2071.

L'ordre d'activité décroissante de ce point de vue s'établit pour ces produits de la manière suivante :

2071, puis 2072, puis 2070, et très loin derrière 2070 *bis*.

Si on envisage la durée de l'effet potentialisateur sur l'acétylcholine, le 2071 possède certainement l'action la plus prolongée.

Le T.E.P.P. dépasse encore le 2071 en durée d'action.

D — RELATIONS AVEC LA TOXICITÉ ET L'ACTIVITÉ ANTICHOLINESTÉRASIQUE

Le 2071 est le composé le plus toxique, l'activité semble liée assez nettement au degré de toxicité. Le 2070 et le 2072 ont leur D.L. 50 très voisine, mais le moins toxique restant le 2072 qui se montre d'ailleurs plus actif sur le rectus que son homologue inférieur.

L'activité anticholinestérasique appréciée sur la pseudocholinestérase, sérum humain par la méthode électrométrique de MICHEL et la méthode de WARBURG, suit l'ordre d'activité croissante depuis le 2070 *bis* en passant par le 2070, le 2071 et le 2072.

La comparaison intéressante, que l'on puisse faire, a trait à l'activité anticholinestérasique déterminée sur la cholinestérase vraie du cerveau du Cobaye.

Numéro conventionnel	Action anticholinestérasique Inhibition 50 % en μg	Action sur le Rectus
2071 H.C.	0,03	++++
2072 H.C.	0,065	+++
2070 H.C.	0,15	++
2070 <i>bis</i> H.C.	350	+

RECTUS ABDOMINIS DE GRENOUILLE

Résultats expérimentaux

Nature du composé	Doses en μg	Contraction par l'Ac après un temps de contact de	Augmentation de l'amplitude de contraction par rapport à l'Ac = 1
2070	5	30 mn 45 —	2,4 2
2070	20	15 mn 30 — 45 —	1,4 1,4 1,4
2070	20	5 mn	1,2
2070	20	7 mn	1,6
2070	40	7 mn	1,8
2071	5	15 mn 30 — 45 — 60 — 75 — 90 — 105 — 120 — 135 — 150 —	2,45 2,85 2,55 2,30 2,15 1,85 2 1,9 1,7 1,5
2071	10	15 mn 30 — 45 — 60 — 75 — 90 — 105 mn 120 — 135 — 155 — 160 —	3 2,6 2,4 2,7 2,7 2,5 2,5 2,5 2 1,8 1,8
2071	10	15 mn 30 — 45 — 60 — 75 — 90 — 105 — 120 — 135 — 150 — 165 —	3,5 3,5 3 3,5 2,5 2,85 2,85 2,85 2,15 1,7 1,4

Nature du composé	Doses en μg	Contraction par l'Ac après un temps de contact de	Augmentation de l'amplitude de contraction par rapport à l'Ac = 1
2071	20	10 mn	1,85
2071	20	15 mn	2,6
2071	20	5 mn	1,75
		10 —	2,1
		15 —	2,25
2071	40	15 mn	1,5
		30 —	1,6
		45 —	1,6
		60 —	1,5
2072	10	15 mn	1,2
		30 —	1,3
		45 —	1,25
		60 —	1,1
2072	10	15 mn	2,4
		30 —	2
		45 —	1,15
		60 —	1,2
		75 —	1,2
		90 —	1,1
		105 —	1
2072	20	15 mn	1,3
		30 —	1,65
		45 —	1,75
		60 —	1,9
		75 —	1,75
		90 —	1,35
		105 —	1,6
		120 —	1,35
		135 —	1,1
		145 —	1
2072	20	27 mn	1,9
		40 —	1,7
		60 —	1,7
		75 —	1,1
2072	20	5 mn	1,55
		10 —	1,6
2072	20	5 mn	1,3
2070 bis	100	15 mn	3,3
		30 —	1,4
		45 —	1

Nature du composé	Doses en μg	Contraction par l'Ac après un temps de contact de	Augmentation de l'amplitude de contraction par rapport à à l'Ac = 1
T.E.P.P.	10	15 mn	3,2
		30 —	4,1
		45 —	3,6
		60 —	3,2
		75 —	3
		90 —	2,9
		105 —	2,6
		120 —	2,6
		135 —	2,4
		150 —	2,4
		165 —	2,3

II — ACTION SUR LA TRANSMISSION NEURO-MUSCULAIRE

A — GÉNÉRALITÉS

La conception actuelle de la transmission neuro-musculaire peut être résumée comme suit :

1) Le passage de l'influx dans le nerf moteur provoque une décharge d'acétylcholine au niveau des terminaisons nerveuses.

2) L'acétylcholine entre en contact avec la plaque motrice et se combine à certaines structures spécifiques (récepteur de la plaque motrice) localisées à la surface externe de la membrane.

3) La combinaison entre l'acétylcholine et les récepteurs de la plaque terminale rend la membrane de la plaque de semi-perméable qu'elle était, fortement perméable à tous les ions, et ce changement de perméabilité conduit à une dépolarisation dans la région de la plaque terminale (potentiel de plaque).

4) En quelques millièmes de seconde, l'acétylcholine est déplacée des récepteurs de la plaque motrice par hydrolyse enzymatique et par diffusion.

5) Quand le potentiel de plaque a atteint un degré critique, il active le muscle adjacent et provoque la propagation de la charge (potentiel d'action).

6) A son tour le potentiel d'action propagé détend les éléments contractiles dans la fibre et provoque une contraction musculaire.

Par leur pouvoir d'inhibition enzymatique, les organo-phosphorés interviennent sur la transmission neuro-musculaire au stade 4. Mais la localisation exacte de leur action est délicate ; en effet, ils agissent là où se trouve la cholinestérase. Or celle-ci, d'après les plus récents travaux de COUTEAUX, se situerait à la fois au niveau de la plaque et au niveau des fibrilles nerveuses motrices.

B — EFFETS SUR L'ANIMAL ENTIER

Les corps de cette série provoquent chez le Lapin anesthésié des fasciculations et des tremblements apparaissent rapidement, environ 1 minute après l'injection intraveineuse. Il semble que le phénomène observé (fasciculations) s'installe lorsque l'enzyme est en train de s'inhiber ; mais une fois que l'inhibition est totale, un état stable, situé à un niveau très bas d'activité cholinestérasique se développe.

C — MONTAGE NERF-MUSCLE

Pour l'étude des diesters phosphoriques du paranitrophénol, nous avons utilisé la préparation nerf sciatique, tibial-antérieur du Lapin.

Ce montage, dont tous les aspects théoriques et pratiques ont été soigneusement analysés par BOURILLET [18], permet l'enregistrement des contractions musculaires provoquées et par conséquent l'étude de l'action des composés organophosphorés sur la jonction nerf-muscle.

D — DESCRIPTION DE LA PRÉPARATION

Un lapin de 2,500 kg est anesthésié par injection dans la veine marginale de l'oreille d'un mélange de chloralose (100 mg/kg) et de mébubarbital (15 mg/kg).

Il importe de mettre en œuvre rapidement la respiration artificielle car le mélange anesthésique exerce une action dépressive nette sur la respiration.

On isole le sciatique sans le traumatiser et on place une ligature très serrée le plus haut possible afin de respecter les vaisseaux nourriciers, puis on laisse au repos jusqu'à la mise en place de l'électrode.

Le tibial antérieur est préparé, son tendon inférieur sectionné et relié au dispositif d'enregistrement myographique. La patte est solidement fixée, pour obtenir des tracés réguliers d'une part, au niveau de l'articulation du genou et, d'autre part, au niveau du jarret.

Une canule est placée dans la jugulaire externe. Puis on met en place l'électrode le plus près possible du muscle. Nous avons utilisé une électrode bipolaire en plexiglas coulissant permettant de maintenir le nerf.

L'excitation est réalisée par un stimulateur électronique construit par les Etablissements RACIA de Bordeaux, du

type GL2P. On envoie un courant de forme rectangulaire d'une durée de 0,2 milliseconde, sous un voltage avoisinant 5 volts. Les impulsions se succèdent à la fréquence de 6 par minute. On trouvera dans la thèse de BOURILLET [18] la description détaillée de l'appareil à contention et du myographe.

Cet appareillage conduit à un enregistrement de la contraction isotonique du muscle : la résistance étant réalisée par une membrane de caoutchouc d'un tambour de Marey.

E — AVANTAGE DU MONTAGE NEURO-MUSCULAIRE

Cette technique présente l'avantage d'utiliser l'animal entier chez lequel le muscle étudié fonctionne dans des conditions d'irrigation, d'innervation, d'insertion pratiquement identiques aux conditions physiologiques.

L'action d'une substance est limitée à ses effets périphériques à l'exclusion de toute action nerveuse centrale qui ne peut se manifester sur la préparation que par la voie humorale. On obtient ainsi une action neuro-musculaire spécifique.

Avec cette préparation, il est possible de montrer un effet curarisant ou une potentialisation de la contraction maximale.

BOURILLET [18] souligne dans un paragraphe les limites d'emploi du montage neuro-musculaire *in situ*. Il y a lieu de rappeler la difficulté, avec ce montage, d'obtenir des renseignements absolument quantitatifs ; cette remarque intéresse particulièrement les corps que nous étudions. On observe une sensibilisation de la préparation au fur et à mesure que l'on renouvelle les doses, et ceci d'autant plus que l'action du produit est plus prolongée. Comme on sait par ailleurs que les organophosphorés de cette série se fixent très longtemps, il est facile d'imaginer la difficulté de l'interprétation des résultats.

Même en faisant une moyenne de plusieurs expériences, on ne peut avoir qu'une estimation de l'activité d'un produit, mais pas plus.

Enfin, une telle préparation présente l'inconvénient de ne pouvoir faire que peu d'études sur un même montage ; de plus, on a intérêt à espacer le plus possible les injections pour éviter l'interférence du produit administré préalablement.

F — ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

1) Action propre.

L'injection intraveineuse des produits de la série étudiée entraîne à forte dose une potentialisation de la contraction maximale.

Avec le 2071 on n'observe aucune modification du tracé pour une dose de 25, 50, 60 $\mu\text{g/kg}$, la dose de 60 $\mu\text{g/kg}$ correspond au 1/5 de la D.L. 50. Cependant si le tracé n'est pas modifié pour 60 $\mu\text{g/kg}$, on voit apparaître des fasciculations musculaires. Il faut atteindre 100 $\mu\text{g/kg}$ pour observer un très léger accident sur le tracé, c'est-à-dire une très faible baisse de l'amplitude, d'ailleurs de très courte durée, suivie d'une légère remontée dépassant la valeur initiale. A cette dose, les fasciculations sont très importantes au niveau des membres inférieurs et la salivation abondante. Il faut une dose de 120 $\mu\text{g/kg}$ pour noter sur le tracé une augmentation légère de l'amplitude des contractions, accompagnée de phénomènes généraux : fasciculations de tous les muscles du squelette, hypersalivation, hyperpéristaltisme.

Le 2070 n'entraîne une augmentation de l'amplitude qu'après avoir injecté successivement 120 $\mu\text{g/kg}$ et 35 minutes après une dose de 500 $\mu\text{g/kg}$ qui donne cette action, accompagnée également de fasciculations et salivation (500 $\mu\text{g/kg}$ correspond sensiblement à la D.L. 50 par voie I.V. chez la Souris).

Le 2072 à la dose de 120 $\mu\text{g/kg}$ n'entraîne aucun changement d'aspect sur le tracé.

Par conséquent, l'action sur la jonction neuro-musculaire, en administrant les substances par voie intraveineuse, n'est obtenue qu'avec des doses considérables qui se rapprochent beaucoup de la D.L. 50 par voie I.V. chez la Souris. Il n'y a donc pas d'action curarisante par un effet qu'on aurait pu supposer être du type acétylcholinomimétique.

2) Action antagoniste de la curarisation.

Mode opératoire :

On administre d'abord le curarisant de manière à obtenir un arrêt presque total des contractions. Puis au moment où les contractions commencent à reprendre, on injecte l'antagoniste éventuel qui, s'il est actif, entraînera une reprise des contractions vers l'amplitude d'origine. Nous avons utilisé la d.tubocurarine pour réaliser la paralysie musculaire.

Résultats.

2070 : après une dose convenable de d.tubocurarine, l'injection de 100 $\mu\text{g/kg}$ (1/5 de la D.L. 50), ce corps entraîne une reprise des contractions musculaires qui reviennent à l'amplitude initiale.

2071 : à 60 $\mu\text{g/kg}$ (1/5 de la D.L. 50) il y a un effet antagoniste presque immédiat de la d.tubocurarine, mais si on observe une action immédiate, l'antagonisme n'est pas parfait, car le temps nécessaire pour revenir au niveau de départ est très long. Ce qui laisse supposer que ce retour à la normale est la conséquence simple de l'élimination progressive du curarisant.

2072 : injecté à la dose de 130 $\mu\text{g/kg}$ (1/5 de la D.L. 50) entraîne une reprise des contractions musculaires, mais beaucoup moins rapidement que le 2071.

2070 : à 110 $\mu\text{g/kg}$ possède aussi un effet antagoniste, mais encore beaucoup plus lent à se manifester et moins intense.

Cette expérience donnerait dans l'ordre d'activité décroissante le classement suivant :

2071, 2072 et 2070.

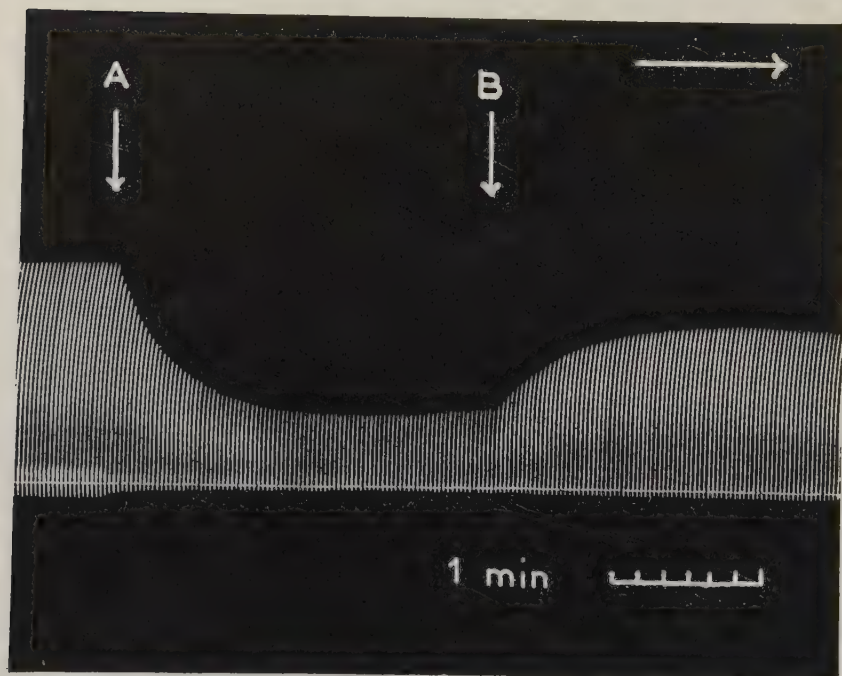
Autre expérience.

2070 : 110 $\mu\text{g/kg}$, reprise des contractions et retour au niveau de départ.

2071 : 60 $\mu\text{g/kg}$, la pente qui représente la reprise des contractions est beaucoup plus accentuée (verticale) et la vitesse de reprise est beaucoup plus grande. Bien entendu, nous avons attendu un retour du tracé à sa valeur de départ, avant de faire une injection du deuxième produit.

Le 2071 paraît plus actif que le 2070.

Montage Sciatique-Tibial antérieur du Lapin



A. - d. tubocurarine : 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$

B. - 2071 H.C. : 60 $\mu\text{g}/\text{kg}$

Autre expérience.

2072 : 130 $\mu\text{g}/\text{kg}$, reprise assez lente des contractions.

3) Conclusion.

Ce nombre assez limité d'essais ne permet pas de conclure sur la valeur comparée de ces trois produits.

Tout au plus, si on devait donner une appréciation d'activité, on pourrait dire que le 2071 se montre le plus actif, particulièrement au point de vue de la rapidité de l'action.

De toute manière, pour obtenir un effet intéressant, il faut injecter des doses assez élevées qui sont en effet de l'ordre du 1/5 de la D.L. 50.

Nous sommes loin des résultats de BAYO BAYO et ADOLFO DE LA PENA [15] qui ont étudié l'action du Mintacol (2072) sur la plaque neuro-musculaire, mais en utilisant une autre technique : celle du sciatique tibial antérieur de BROWN sur le Chat décérébré de SHERRINGTON modifiée par FIGUERA.

Dans cette technique, l'injection des substances se fait par voie intra-artérielle. Les auteurs observent avec 10 μg d'Éticol (2072) un blocage de la transmission, sans phase préalable d'augmentation de la contracture. Cette action est provoquée par l'inhibition des cholinestérases entraînant une accumulation d'acétylcholine au niveau de la plaque motrice. Par contre, l'augmentation de la contracture a été observée pour des doses beaucoup plus faibles de l'ordre de 1 μg .

Chapitre VII

ACTION sur la FIBRE MUSCULAIRE LISSE

I — ACTION SUR L'INTESTIN ISOLÉ

- a)* Technique d'étude.
- b)* Technique d'étude.
- c)* Résultats.

II — ACTION SUR L'ŒIL

- a)* Généralités.
- b)* Action sur l'œil du lapin.
- c)* Action sur l'œil de Grenouille.

I — ACTION SUR L'INTESTIN ISOLÉ

L'intestin isolé est très intéressant à étudier car ce muscle synthétise continuellement de l'acétylcholine.

Dès 1947, BACQ [11] a montré que l'action du D.F.P. sur cette préparation reproduit l'action de l'ésérine et, d'ailleurs, après un temps de contact suffisant et après lavage ni l'ésérine, ni une seconde dose de D.F.P. ne produisent la moindre réaction. Inversement, un intestin de Lapin, soumis à l'ésérine, devient réfractaire au D.F.P.

Le muscle lisse, traité, même après une dose faible de D.F.P. est sensibilisé à l'ésérine, ainsi que, d'après HAZARD et ses collaborateurs [45, 47, 48, 49, 50], à l'action de substances au moins partiellement acétylcholiniques comme les ions potassium. Cette action est générale et constatée pour le Paraoxon (2072 H.C.).

L'action des anticholinestérasiques sur l'intestin se traduit par une augmentation du tonus, de la vitesse et de l'amplitude des contractions. A doses suffisantes, elle aboutit à un spasme. Cette action, qui peut aisément être combattue par l'atropine, a pu être mise à profit dans le traitement de la distension abdominale.

C'est au cours de l'étude de cette action que KÆLLE et FRIEDENWALD [72] ont pu mettre directement en évidence l'importance des pseudocholinestérases dans les phénomènes vitaux.

A — TECHNIQUE D'ÉTUDE

La technique d'étude de MAGNUS [85] est appliquée à l'iléon de cobaye, prélevé sur l'animal laissé à jeûn depuis 24 heures.

L'organe isolé est maintenu en survie dans un dispositif approprié maintenant la température à 38° et réalisant une aération convenable de la préparation. La cuve réactionnelle a une capacité de 25 ml.

Nous avons utilisé le liquide physiologique de Tyrode :

Chlorure de sodium	8 g
Chlorure de potassium	0,20 g
Chlorure de calcium	0,20 g
Chlorure de magnésium	0,10 g
Carbonate acide de sodium	1 g
Phosphate monosodique	0,05 g
Glucose	1 g
Eau distillée	1 000 ml

L'organe est attelé à un dispositif d'enregistrement myographique.

B — CONDITIONS EXPÉRIMENTALES

Le montage ainsi réalisé est soumis, après un temps de repos approprié, à l'action contracturante de solutions d'acétylcholine diluées à partir d'une solution mère de chlorure d'acétylcholine à 2 % en solution dans l'eau distillée. L'action est obtenue avec des doses d'acétylcholine variant de 0,05 à 1 μ g pour une cuve de 25 ml.

Les stimulations à l'acétylcholine durent 30 secondes et sont suivies de quatre lavages successifs au liquide de Tyrode. On peut répéter l'action de l'acétylcholine environ toutes les 5 minutes.

L'étude des substances est pratiquée en ajoutant un volume de solution identique au volume d'acétylcholine, après un temps de contact de 1 minute, nouvelle addition d'acétylcholine et appréciation du renforcement de l'action contracturante de l'acétylcholine.

On observe fréquemment qu'après cette première stimulation suivie de lavages, une nouvelle stimulation donne une amplitude de contraction plus intense. Ce qui laisse supposer que les produits se fixent assez fortement et ne manifestent leur action renforçatrice qu'après un temps de latence, bien que les lavages tendent à faire disparaître le produit.

C — RÉSULTATS

1) Action propre.

Aux doses de 1, 2, 5, 10 μ g aucun des produits ne possède une action propre. Mais le 2070 à 100 μ g possède une action propre très importante, le 2070 *bis* à la même dose reste sans action.

2) Potentialisation de l'effet de l'acétylcholine.

Dans le tableau ci-joint sont rassemblés les résultats expérimentaux. Les doses envisagées sont toujours ajoutées au bain de 25 ml. L'ésérine a été prise comme substance de comparaison.

Un tel tableau a peu de signification, il a seulement l'avantage de mettre en valeur les variations de sensibilité d'une expérience à l'autre.

En réalité, les seules expériences interprétables pour comparer avec sûreté l'activité des produits entre eux, sont celles qui ont pu être réalisées en faisant agir successivement sur la même préparation une dose identique pour chacun des produits. Bien entendu ces déterminations ont été effectuées en veillant à ce que le produit essayé soit totalement éliminé avec retour de la contraction à sa valeur de départ.

Pour les faibles doses de 1 et 2 μg , on constate que l'ordre d'activité décroissante s'établit comme suit :

2072, 2071, 2070, 2070 *bis*.

Le 2070 *bis*, qui n'a pas été signalé dans le tableau, n'a aucune action propre comme nous l'avons signalé, mais n'a pas non plus une action renforçatrice sur l'acétylcholine.

La comparaison de l'activité de l'ésérine avec l'un d'entre eux le 2072, montre qu'il est nécessaire d'utiliser 5 μg d'ésérine pour obtenir environ le même effet que 2 μg de 2072.

Remarque :

Les résultats expérimentaux figurent sur les tableaux ci-après :

INTESTIN ISOLÉ DE COBAYE

Résultats expérimentaux

Numéro conventionnel	Doses en μg pour cuve de 25 ml	Contraction par rapport à action de Ac = 1
2070 H.C.	1 (m. exp.)	2,5
	1	2,9
	1	1,9
	1	2
	2	7
	2	3,6
	2 (m. exp.)	5
	10	2
	10	10
	10	1,75
2071 H.C.	1 (m. exp.)	3
	1	1,6
	1	8
	2	2,25
	2	2,55
	2 (m. exp.)	6
2072 H.C.	1 (m. exp.)	7,3
	1	4,75
	1	2,9
	2 (m. exp.)	8,75
	2	2,1
	10	1,3

Nature du composé	Doses en μg pour cuve de 25 ml	Contraction par rapport à action de Ac = 1
Esérine	2	1,4
	2	1,4
	2 (m. exp.)	3,75
	5	4
	5	6,2
	5	5,25
	5	5
	5	8,65
	10	16
	10	3,5

II — ACTION SUR L'ŒIL

A — GÉNÉRALITÉS

1) Utilisation des organophosphorés comme myotiques.

Le manque d'ésérine après la guerre fut la cause des études entreprises sur les propriétés myotiques et antiglaucomateuses de nombreuses substances synthétisées par SCHRADER [106]. Des premiers essais faits sur lui-même, SCHRADER avait observé, à côté d'autres symptômes, des troubles de la vue par rétrécissement de la pupille. Cette observation a permis d'envisager des essais pharmacologiques avec ce groupe de substances (E. GROSS, 1944, W. WIRTH [125], J. SEXTL en 1937, L. LENDELE et W. KOLL [75], 1939). Indépendamment de ce fait des auteurs anglais et américains ont, à la suite de LANGE et KRUGER [77], qui avaient signalé lors de la préparation de dialcoylfluorophosphates des troubles semblables à ceux enregistrés par SCHRADER, introduit comme antiglaucomateux et comme myotique le Diisopropyl-Fluoro-Phosphate (D.F.P.).

En même temps cette préparation fut proposée dans le traitement des paralysies intestinales postopératoires et de la myasthénie grave. Cette substance, qui fut synthétisée pour la première fois par SCHRADER en 1939, et plus tard par Mc COMBIE et SAUNDERS [84] en 1941, ne peut être utilisée en clinique que sous forme d'une solution huileuse étant donné que les solutions aqueuses sont hydrolysées déjà au bout de 16 heures.

Le besoin de disposer d'une substance résistant à l'eau a conduit à la mise au point du phosphate de diéthylparanitrophényle (2072 H.C.).

2) Intérêt des myotiques dans le traitement du glaucome.

L'étiologie et la genèse du glaucome ne sont pas exactement connues à l'heure actuelle, cette affection est en effet très complexe.

Cependant on admet de plus en plus l'importance particulière des troubles du mécanisme de la régulation vaso-

motrice et de leur influence sur l'état de réplétion et la perméabilité des vaisseaux intra-oculaires. Assez souvent la déviation de l'innervation vaso-motrice est attribuée à une prédominance sympathicotonique, bien que cela implique certaines contradictions en thérapeutique. MARCHESANI [86] et FILBRY [35] insistent moins sur l'hyperfonctionnement au niveau du système sympathico-adrénérique que sur une excitation subliminale du parasympathique, l'hypotonie étant peut-être de nature constitutionnelle. Si, à un âge avancé, des troubles de la sécrétion interne venaient diminuer encore davantage le tonus parasympathique, la coïncidence de ces deux facteurs serait susceptible, selon les auteurs, de déclencher le glaucome.

Du point de vue neuro-humoral, cela signifierait que la déficience d'acétylcholine, favoriserait ou déclencherait l'accès de glaucome. Inversement, l'apport d'acétylcholine devrait empêcher ou raccourcir l'accès. Il semble que les essais de FILBRY [35], qui a tenté de contrebalancer la déficience par instillation dans l'œil et administration intramusculaire simultanée de solution d'acétylcholine, aient eu un certain résultat.

Des essais [125] avec le chlorure d'acétylcholine effectués sur des chats ont cependant montré que les instillations de solutions aqueuses n'ont pas d'effets pratiques appréciables. Même l'administration de solution à 10 % de chlorure d'acétylcholine n'a eu pour résultat qu'un rétrécissement passager à peine esquissé de la pupille.

Il semble que le chlorure d'acétylcholine, qui est hydro-soluble, mais non oléosoluble, ne possède pas un pouvoir de pénétration notable dans les tissus oculaires. Les faibles fractions, qui y pénètrent effectivement, sont vraisemblablement hydrolysées et rendues inefficaces avant qu'elles n'arrivent à l'endroit voulu. Des essais furent repris avec une préparation oléosoluble d'acétylcholine. Mais le stéarate appliqué à diverses concentrations sur l'œil du chat n'a pas non plus provoqué des réactions de la pupille méritant d'être notées.

Il semble donc, d'après l'expérience pharmacologique, que la tentative d'exercer sur l'œil une sorte de thérapeutique de substitution par l'apport immédiat du principe actif lui-même, soit à écarter pour le cas présent.

Bien que, en cas de glaucome, la dimension de la pupille ne soit pas le seul facteur décisif dans l'augmentation de la pression, il semble pourtant que le traitement médicamenteux avec des myotiques doués d'un pouvoir de pénétration suffisant dans les tissus, occupe la première place.

B — ACTION MYOTIQUE SUR L'ŒIL DU LAPIN

L'appréciation biologique de l'activité de ces produits peut s'effectuer par la constatation d'un myosis sur l'œil du lapin.

Comme solutions d'épreuves, nous avons utilisé des concentrations qui figurent sur le tableau des résultats expérimentaux. Les produits sont solubilisés dans l'eau.

1) Technique d'étude.

On instille dans le cul-de-sac conjonctival d'un œil de l'animal d'expérience II gouttes (soit 0,1 ml) de la solution à tester et tenir la paupière fermée pendant quelques minutes pour éviter l'écoulement du liquide.

L'autre œil non traité sert de témoin.

Le degré du myosis, l'intensité et la durée de la réaction pupillaire permettent d'évaluer la concentration de la solution d'épreuve en se conformant aux effets indiqués dans le tableau ci-après :

DEGRÉ DU MYOSIS		DURÉE D'ACTION
+	léger myosis	On note le début l'acmé la disparition
++	myosis net (marqué)	
+++	myosis intense	
	sans action	
+++	correspondant au myosis maximum, se traduit par une pupille fermée punctiforme.	
++	myosis marqué, pupille fermée au 3/4 par rapport à l'œil témoin.	
+	myosis léger, pupille fermée au 1/4 ou 1/2 par rapport à l'œil non traité.	

2) Résultats.

Pour la concentration de 1.10^{-4} :

2070 *bis* n'a pas d'action ;

2071 et 2072 donnent un myosis débutant après 20 minutes de contact, l'intensité maximum se situe vers 30 minutes, puis décroît très lentement. A 120 minutes on observe une diminution sensible de l'activité. Pour le 2072, au contraire, le myosis se prolonge très nettement jusqu'à 240 minutes.

A la concentration de 1.10^{-5} :

Pour le 2070, 2071 et 2072, le début de l'action est obtenu dans le même temps, soit environ à la 10^e minute, avec un maximum se situant vers 60 minutes.

On note pour le 2072 une durée d'action plus prolongée que ses homologues.

L'étude de l'action myotique du 2072 (Mintacol) a été étudiée en détail. Ce produit est en effet l'objet d'une application thérapeutique dans le traitement du glaucome. Nous relevons une concentration très souvent utilisée pour le Mintacol : le 1/6 000 (concentration du collyre commercialisé) qui a été comparé au 2071 employé à ce même taux de dilution.

Numéro conventionnel	Début de l'action	Acmé	Déclin de l'action
2071	+ en 20 m	+++ pendant 2 à 3 h	+ encore net après 7 h, subsiste encore quelque activité en 24 h
2072	+ en 30 mn	+++ pendant 1 à 3 h	+ encore net à 5 h myosis faible après 24 h, état normal après 1 ou 2 jours

Le 2071 semble avoir une action presque aussi intéressante que le 2072.

Le choix de la concentration de 1/6 000 semble avoir été guidé par un certain nombre de faits. Ce taux de dilution n'est pas suivi d'action cumulative, l'instillation quotidienne sur l'œil du Chat donne des réactions identiques de la pupille. De plus, cette concentration n'entraîne, après répétition quotidienne prolongée, aucune action irritante locale ni sur la cornée, ni sur la conjonctive.

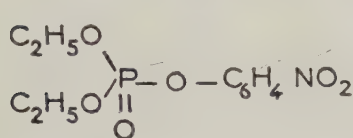
Remarques.

Comme pour les produits du même genre, l'action myotique n'est obtenue que par administration locale sur l'œil directe-

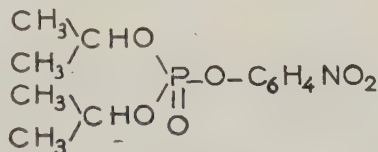
ment. Mais on n'observe jamais de myosis lorsque le produit est donné *per os* ou par voie parentérale même à dose toxique.

Structure - Activité.

Le effets assez semblables des 2071 et 2072 rejoignent les conclusions formulées par J.-M. BAYO BAYO et A. DE LA PENA [15] travaillant sur l'action myotique de l'Eticol (2072) et du Propicol (Méticol).



Eticol



Méticol

Ces auteurs ont trouvé que les produits mentionnés possèdent des courbes d'action myotiques semblables, aussi bien pour le début du myosis que pour l'atteinte du point maximum ou la durée des effets.

Il n'y a donc pas lieu ici, en comparant les formules ci-dessus d'envisager une influence de l'augmentation du nombre d'atomes de carbone des radicaux substituants sur l'activité myotique.

Influence de l'espèce animale sur l'action myotique.

Les auteurs ci-dessus rapportent également une différence d'action qualitative suivant les espèces animales.

Le Propicol n'est actif, ni sur le Chat, ni sur le Chien, mais dans les mêmes conditions de travail le D.F.P., qui est un myotique très énergique, n'est pas actif non plus sur l'œil du Chien et du Chat, même si l'injection se fait dans le sac conjonctival.

Comme de plus la pilocarpine est mydriatique sur le Cobaye et le Rat, mais l'ésérine et la pilocarpine sont peu actives sur le Lapin, qui répond très intensément aux autres myotiques, ces auteurs pensèrent que la stimulation des terminaisons cholinergiques n'était pas le seul mécanisme d'action des myotiques, et que peut être l'interférence avec d'autres processus enzymatiques intracellulaires pourrait être responsable de la dissemblance des résultats obtenus.

3) Conclusion.

En se plaçant au point de vue de la seule durée d'action, il est certain que le 2072 est le plus actif. Le 2071 et le 2070 ont des actions assez voisines, toutefois le 2070 aurait une durée d'action légèrement plus longue que le 2071. Mais par contre le 2071 possède une intensité d'action nettement plus forte.

ACTION MYOTIQUE SUR L'ŒIL DU LAPIN

Numéro conventionnel	Concentration de la solution	Début de l'action		Effet maximum à	Déclin après
		Intensité	Temps		
2070 <i>bis</i>	1.10^{-3} 1.10^{-4}	0 0			
2070 H.C.	1.10^{-5}	+	10 mn	60 mn	150 mn
	1.10^{-6}	+	15 —	30 —	150 —
	1.10^{-6}	++	15 —	60 —	120 —
	1.10^{-7}	+	45 —	mn	120 —
2071 H.C.	1.10^{-4}	+	20 mn	30 ra dunnt	120 mn
	1.10^{-5}	+	10 —	60 m	150 mn
	1.10^{-5}	+	10 —	30 —	120 —
	1.10^{-6}	+	15 —	30 —	120 —
	1.10^{-6}	+	30 —		à 150 mn
	1.10^{-7}	+	45 —		120 mn
	1/6000	+++	dure 2-3 h		120 —
		++	7 h		
		+	au-delà de 24 h		
2072 H.C.	1.10^{-4}	+	20 mn	30 mn durant 60 mn	120 mn
	1.10^{-4}	+	20 mn j	30 mn durant 25 mn	240 —
	1.10^{-5}	+	10 mn	60 mn	180 —

C — ACTION MYOTIQUE SUR L'ŒIL DE GRENOUILLE

Technique.

La technique de l'œil énucléé de grenouille pour l'étude des mydriatiques et des myotiques de J. LÉVY et R. HAZARD [81] a été pratiquée avec deux des corps de la série.

Sur l'œil énucléé, en prenant un certain nombre de précautions, on mesure les dimensions de la pupille à des intervalles de temps régulier pour obtenir des chiffres précisant l'activité du produit.

L'application du produit est réalisée en baignant l'œil dans une solution de concentration connue.

Résultats.

2070	2072
1.10 ⁻⁵ : 46 % de myosis en 30 mn retour à la normale en 60 mn.	1.10 ⁻⁵ : aucune action.
1.10 ⁻⁶ : 19 % de myosis en 15 mn, retour à la normale en 30 mn.	
1.10 ⁻⁷ : 74 % de myosis en 75 mn, le myosis débute en 15 mn.	1.10 ⁻⁷ : aucune action.
1/6000 : pas de myosis en 60 mn, dilatation nette.	1/6000 : pas de myosis en 75 mn.
	1.10 ⁻³ : très peu de myosis pendant 5 mn.
	1.10 ⁻⁴ : 20 % de myosis en 10 mn, retour à la normale en 35 mn.

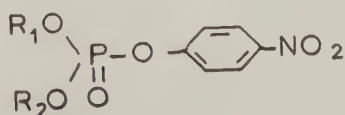
Cette technique semble se prêter assez mal à l'étude de l'action myotique des organophosphorés comme on peut le voir à la simple lecture de ces résultats.

CONCLUSION

CONCLUSION

L'étude pharmacologique a porté sur trois composés organophosphorés dérivés du paranitrophényle, qui diffèrent entre eux par la nature des radicaux R_1 et R_2 .

Formule générale :

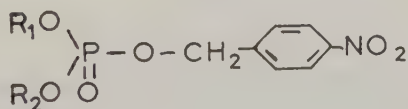


2070 H.C. : $R_1 = R_2 = \text{CH}_3$

2071 H.C. : $R_1 = \text{CH}_3$ $R_2 = \text{C}_2\text{H}_5$

2072 H.C. : $R_1 = R_2 = \text{C}_2\text{H}_5$

et sur un quatrième composé dérivé du paranitrobenzyle :



2070 *bis* H.C. : $R_1 = R_2 = \text{CH}_3$

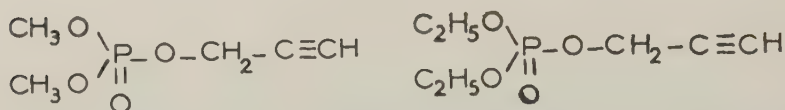
Ce rappel des formules de constitution, va nous permettre d'envisager les relations qu'on pourrait dresser dans une première approximation entre la structure chimique et l'activité pharmacologique.

La variation des rapports méthyl/éthyl dans une même molécule, intéresse de nombreux chapitres de la Pharmacologie.

Nous rappellerons les travaux récents du professeur J. CHEYMOL sur cet intéressant problème [23, 24]. Sur une structure du type : $\text{PO}_3(\text{R})^3$, la substitution progressive de radicaux $\text{R} = \text{CH}_3$ par des radicaux $\text{R} = \text{C}_2\text{H}_5$, conduit à une exaltation du pouvoir anticholinestérasique en même temps que la toxicité augmente. Toutefois le phosphate de diéthylméthyl

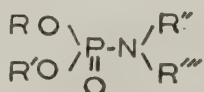
est plus actif que le phosphate de triéthyl, ceci tient à ce que le CH_3 est plus mobile que le C_2H_5 .

Une étude des phosphates de diméthylpropargyl et diéthylpropargyl :



a montré que ces composés chimiques étroitement apparentés possèdent des propriétés pharmacodynamiques fort différentes. Le composé II est plus toxique, plus anticholinestérasique, plus hypotenseur que le composé I, et il possède seul une action contracturante sur la fibre lisse.

Une autre série étudiée par le professeur CHEYMOL et collaborateurs [25] du type des phosphoramides :



dans lesquels : $\text{R} = \text{R}' = \text{CH}_3$ (I)

$\text{R} = \text{R}' = \text{C}_2\text{H}_5$ (II)

$\text{R} = \text{CH}_3$, $\text{R}' = \text{C}_2\text{H}_5$ (III)

l'activité anticholinestérasique était plus élevée pour les composés (III) que pour les autres, ces composés (III) étant également les moins toxiques.

L'expérimentation, permettant de conclure avec précision des rapports entre l'activité et la structure chimique, exigerait un très grand nombre d'essais pour préciser les faits déjà observés. Mais la remarquable stabilité des solutions aqueuses de ces produits confère une certaine authenticité aux essais pratiqués.

Une remarque s'impose, le 2071 composé dissymétrique : méthyl-éthyl est plus toxique que ses homologues symétriques. Pour les dérivés symétriques, la toxicité ne semble pas proportionnelle à l'augmentation du nombre d'atomes de carbone, puisque le composé diméthylé est plus toxique que le diéthylé. Mais comme nous l'avons vu, les toxicités sont trop voisines pour tenir compte d'une telle remarque.

TABLEAU REPRÉSENTANT L'ORDRE D'ACTIVITÉ DÉCROISSANTE DES COMPOSÉS

(de gauche à droite) :

2070 *bis* = *bis*, 2070 = 0, 2071 = 1, 2072 = 2

Toxicité	1	0	2	<i>bis</i>
Activité anti-Pseudocholin.	2	1	0	<i>bis</i>
cholinestérasique Vraie cholin.	1	2	0	<i>bis</i>
Lacrymation sanglante du rat	2	1	0	<i>bis</i>
Pression artérielle du chien.....	1	0	2	<i>bis</i>
Cœur isolé de grenouille	2	1	0	<i>bis</i>
Sciatique-tibial antérieur du lapin.....	1	0	2	<i>bis</i>
Rectus abdominis de grenouille	1	2	0	<i>bis</i>
Intestin isolé de cobaye.....	2	1	0	<i>bis</i>
Action myotique sur l'œil du lapin	2	1	0	<i>bis</i>

Ce tableau représente, pour chaque épreuve, l'ordre d'activité décroissante (de gauche à droite) et permet de comparer les résultats avec la toxicité. On peut se rendre compte de la diversité des réponses selon la préparation envisagée.

Il est évident que la conclusion la plus sûre que l'on puisse donner en comparant les formules de constitution est basée sur l'activité anticholinestérasique. Cette détermination présente une certaine rigueur et peut servir de base à une interprétation. Mais la valeur de l'inhibition des cholinestérases déterminée *in vitro* ne peut vraisemblablement pas se transposer aux phénomènes *in vivo*, sans quelques adaptations importantes.

On peut envisager un second tableau de ce type où les tests seraient groupés par ordre d'activité.

I	II	III
Toxicité Pression art. Nerf-muscle	Inhibition chase vraie Rectus abdominis	Pseudocholin. ase Lacrymation Cœur de grenouille Intestin isolé Action myotique
102 <i>bis</i>	120 <i>bis</i>	210 <i>bis</i>

Type d'activité I : L'action sur la pression artérielle et la transmission neuro-musculaire semble fonction de la toxicité.

Toutefois pour la pression artérielle l'action à toxicité égale semble fonction de l'augmentation du nombre d'atomes de carbone.

Le *type II* se rapproche beaucoup du précédent, puisque le composé dissymétrique 2071 reste le plus actif, mais la différence porte sur les 2070 et 2072.

Pour les types I et II, le composé méthyl-éthyl est le plus actif. Or trois de ces tests ont été réalisés sur l'animal entier et peuvent se comparer du point de vue de l'activité des produits à l'inhibition de la cholinestérase vraie dont on connaît le rôle important dans le fonctionnement physiologique.

Pour les tests du *type III*, il serait séduisant de conclure que l'activité est proportionnelle à l'augmentation du nombre d'atomes de carbone, établissant un rapport simple entre la structure chimique et l'activité, comme cela est bien connu dans un certain nombre de séries chimiques. Mais dans ce groupe deux tests sont pratiqués sur l'animal entier. La lachrymation sanglante, qui est un moyen indirect de mesurer l'activité anticholinestérasique, semble parallèle à l'action inhibitrice sur la pseudocholinestérase.

L'action sur la fibre lisse paraît dépendre étroitement de la structure chimique. L'activité myotique est obtenue sur l'animal entier, mais comme il s'agit d'une action purement localisée à l'œil, qui n'est d'ailleurs pas obtenue lorsqu'on injecte le produit, il n'y a pas lieu de considérer ce test dans la catégorie *in vivo*.

Cette étude pour incomplète qu'elle soit, permet d'avoir une idée de l'action sur l'appareil cardio-vasculaire, la fibre striée et la fibre lisse, et sur les cholinestérases autant de renseignements qui peuvent être intéressants en cas d'intoxication chez l'homme. L'analyse pharmacologique systématique des composés destinés à entrer en contact avec l'homme, pour une cause ou pour une autre (emploi des insecticides organophosphorés par exemple) permet de mettre en œuvre les moyens préventifs contre une éventuelle intoxication.

Si l'un des composés organophosphorés envisagé ici fait l'objet d'une utilisation thérapeutique très efficace ; on garde toujours l'espoir de découvrir un médicament de la myasthénie. La série des organophosphorés paraît suffisamment riche de promesse pour y puiser peut-être dans l'avenir un nouveau dérivé particulièrement intéressant.

BIBLIOGRAPHIE

1. ALDRIDGE (W. N.) et DAVISON (A. N.). — *Biochem. J.*, 1952, 52, 663-671.
2. ALDRIDGE (W. N.) et DAVISON (A. N.). — *Biochem. J.*, 1953, 53, 62-67.
3. ALDRIDGE (W. N.). — *Biochem. J.*, 1953, 53, 110-117.
4. ALDRIDGE (W. N.) et DAVISON (A. N.). — *Biochem. J.*, 1953, 55, 763-765.
5. ALDRIDGE (W. N.). — *Arhiv. hig. rada.* (Zagreb), 1956, 10, 143-154.
6. ALDRIDGE (W. N.). — *Ann. Repts. Progr. Chem.* (Chem. Soc., London), 1956, 53, 294-305.
7. AMMON (R.) et VOS (G.). — *Plügers Arch. ges. Physiol.*, 1935, 235, 393-400.
8. AUGUSTINSSON (K. B.). — *Acta Physiol. Scand.*, 1948, 15, suppl. 52.
9. AUGUSTINSSON (K. B.). — *Arch. Biochem.*, 1949, 23, 111-126.
10. AUGUSTINSSON (K. B.). — *Arzneimittel forschung*, 1954, 4, 242-9.
11. BACQ (Z. M.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1947, 141, 857-859.
12. BALLS (A. K.) et JANSEN (E. F.). — *Advanc. Enzymol.*, 1952, 13, 321-343.
13. BARNES (J. M.) et DUFF (J. I.). — *Brit. J. Pharmacol.*, 1953, 8, 334.
14. BARNES (J. M.) et DUFF (J. I.). — *Brit. J. Pharmacol.*, 1954, 9, 153-158.
15. BAYO-BAYO (J. M.) et PENA (A.). — *Arch. Inst. Farmacol. exp.*, Madrid, 1953, 5, 195-214.
16. BEHRENS (B.) et KARBER (C.). — *Arch. f. exp. Path. u Ph.*, 1935, 177, 379.
17. BOMBINSKI (T. J.) et DUBOIS (K. P.). — *Arch. Ind. Health*, 1958, 17, 192-199.
18. BOURILLET (F.). — Thèse de Pharmacie, Paris, 1959.
19. BURGEN (A. S. V.). — *Brit. J. Pharmacol.*, 1949, 4, 185.
20. BURGEN (A. S. V.). — *Brit. J. Pharmacol.*, 1949, 4, 219-228.
21. CASIDA (J. E.). — *J. Agric. Food Chem.*, 1956, 4, 772-785.
22. CASULA (D.), CHERCHI (P.) et SPINAZZOLA (A.). — *Boll. soc. ital. Biol. sper.*, 1959, 35, 1483-1487.
23. CHEYMOL (J.), CHABRIER (P.), MURAD (J.) et SELIM (M.). — *Thérapie*, 1960, XV, 237-241.
24. CHEYMOL (J.), CHABRIER (P.), MURAD (J.) et SELIM (M.). — *Thérapie*, 1960, XV, 242-246.
25. CHEYMOL (J.), CHABRIER (P.), BEAUVALLET (M.), SELIM (M.) et THANH-THUONG (N.). — *Thérapie*, 1961, XVI, 28-33.
26. CIMA (L.). — *Riv. infortuni e mal. profess.*, 1959, 46, 995.
27. CORTEGGIANI (E.). — Thèse Doctorat Sciences, Paris, 1939.
28. CORTEGGIANI (E.), CARAYON-GENTIL (A.), GAUTRELET (J.) et KASWIN (A.). — *J. Physiol. et Pathol.*, 1939, 37, 5-18 et 19-34.
29. DEL CASTILLO (J.) et KATZ (B.). — *Progr. Biophys.*, 1956, 6, 121-170.
30. DELGA (J.). — *Actualités Pharmacologiques*, 1957, 10, 47-87.

31. DOUGLAS (W. W.) et PATON (W. D. M.). — *J. Physiol.*, 1954, 124, 325-344.
32. DUBOIS (K. P.), DOULL (J.) et COON (J. M.). — *J. Pharmacol. exp. Thérap.*, 1950, 99, 376-393.
33. ELLIS (S.). — *J. Pharmacol. exp. Thérap.*, 1947, 91, 370-378.
34. ELLIS (S.), SANDERS (S.) et BODANSKY (O.). — *J. Pharmacol. exp. Thérap.*, 1947, 91, 255-262.
35. FILBRY. — *Klin. Wschr.*, 1948, 12, 30.
36. GAGE (J. C.) et PAYTON (J.). — Résumé des communications du II^e Congrès international de Biochimie, Paris, 1952.
37. GAGE (J. C.). — *Biochem. J.*, 1953, 54, 426-430.
38. GERSHON (S.) et SHAW (F.). — *Lancet*, 1961, I, 1371-1374.
39. GOLDSTEIN (A.). — *J. Pharmacol. exp. Thérap.*, 1951, 101, 13.
40. GOLIKOV (S. N.) et ROSENGART (B. J.). — *Farmakologia tokykologia fosforganitsheskikh Soedikeny Medgiz* (Léningrad, 1960).
41. GROB (D.), HARVEY (A. M.), LANGWORTH (O. R.) et LILIENTHAL (J. L.). — *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1947, 81, 257-266.
42. HAGAN (E. C.) et FRAWLEY (J. P.). — *Fed. Proc.*, 1951, 10, 304.
43. HARTLEY (G. S.) et KILBY (B. A.). — *Nature*, 1950, 166, 784-785.
44. HARVEY (A. M.), LILIENTHAL (J. R. Jr.), GROB (D.), JONES (B. F.) et TALBOT (S. A.). — *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1947, 81, 267.
45. HAZARD (R.), BOISSIER (J. R.) et MOUILLE (P.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1956, 150, 496.
46. HAZARD (R.), CORNEC (A.) et PIGNARD (P.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1950, 144, 358.
47. HAZARD (R.) et RENIER-CORNEC (A.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1952, 146, 896.
48. HAZARD (R.) et RENIER-CORNEC (A.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1953, 147, 1672.
49. HAZARD (R.) et RENIER-CORNEC (A.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1954, 148, 49.
50. HAZARD (R.) et RENIER-CORNEC (A.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1955, 149, 292.
51. HECHT (G.) et WIRTH (W.). — *Arch. exp. Path. Pharmacol.*, 1950, 211, 264-277.
52. HENSCHLER (D.). — *Arch. exp. Path. Pharmacol.*, 1957, 232, 223-226.
53. HENSCHLER (D.). — *Klin. Wschr.*, 1958, 26, 663-674.
54. HENSCHLER (D.) et BAYER (H. H.). — *Arch. exp. Pathol. Pharmacol.*, 1958, 233, 512-517.
55. HENSCHLER (D.). — *Arch. exp. Path. Pharmacol.*, 1959, 236, 503-509.
56. HERKEN (H.) et NEUBERT (D.). — *Arch. exp. Pathol. Pharmacol.*, 1953, 219, 223-233.
57. HEYMANS (C.). — *Expos. ann. Biochim. méd.*, 1951, 12, 21-53.
58. HIMWICH (H. E.) et FREEDMAN (A. M.). — *Fed. Proc.*, 1948, 7, 55.
59. HOLMSTEDT (B.). — *Pharmacological Reviews*, 1959, 11, 567-688.
60. HOLMSTEDT (B.), KROOK (L.) et ROONEY (J. R.). — *Acta pharm. tox., Kbh.*, 1957, 13, 337-344.
61. JANDORF (B. J.), MICHEL (H. O.), SCHAFER (N. K.), EGAN (R.) et SUMMERSON (W. H.). — *Disc. Faraday Soc.*, 1955, 20, 134-142.
62. JANDORF (B. J.), MICHEL (H. O.), SCHAFER (N. K.), EGAN (R.) et SUMMERSON (W. H.). — *Disc. Faraday Soc.*, 1955, 12, 4808.
63. JANSEN (E. F.) et BALLS (A. K.). — *J. Biol. Chem.*, 1952, 194, 721-727.
64. JANSEN (E. F.), CURL (A. L.) et BALLS (A. K.). — *J. Biol. Chem.*, 1951, 190, 557-562.

65. JANSEN (E. F.), FELLOWS-NUTTING (M. D.) et BALLS (A. K.). — *J. Biol. Chem.*, 1949, 179, 201-204.
66. JANSEN (E. F.), FELLOWS-NUTTING (M. D.), JANG (R.) et BALLS (A. K.). — *J. Biol. Chem.*, 1950, 185, 209-220.
67. KEWITZ (H.) et WILSON (I. B.). — *Arch. Biochem. and Biophys.*, 1956, 60, 261-263.
68. KEWITZ (H.), WILSON (I. B.) et NACHMANSOHN (D.). — *Arch. Biochem. and Biophys.*, 1956, 64, 456-465.
69. KILBY (B. A.) et YOUATT (G.). — *Biochem. et Biophys. Acta*, 1952, 8, 112-113.
70. KISIELEWSKI (T.) et LYSZCARZ (J.). — *Postepy Biochem.*, 1959, 5, 47-65.
71. KÆLLE (G. B.). — *J. Pharmacol. exp. Thérap.*, 1950, 100, 158-179.
72. KÆLLE (G. B.), KÆLLE (E. S.) et FRIEDENWALD (J. S.). — *J. Pharmacol. exp. Thérap.*, 1950, 100, 180.
73. KÆLLE (G. B.). — *Biochem. J.*, 1953, 53, 217-226.
74. KÆLLE (G. B.) et GILMAN (A.). — *Pharmacol. Rev.*, 1949, 1, 166.
75. KOLL (W.). — *Pharmakologie und Toxikologie*, Hamburg : H. H. Nölke-Verlag., 1948, 232.
76. KOVACHE (H.), JEAN (H.) et GARNIER (G.). — *Chim. et Industr.*, 1950, 64, 287-299.
77. LANGE (W.) et KRUEGER (G.). — *Ber.*, 1932, 65 B, 1598-1601.
78. LÉVY (J.). — *J. de Physiol.*, 1951, 43, 103-125.
79. LÉVY (J.). — *J. de Physiol.*, 1951, 43, 127-138.
80. LÉVY (J.). — *J. de Physiol.*, 1952, 44, 663-670.
81. LÉVY (J.) et HAZARD (R.). — *Arch. int. Pharmacodyn.*, 1929, 36, 26.
82. LÆWI (O.) et NAVRATIL (E.). — *Arch. f. d. ges. Physiol.*, 1926, 214, 678.
83. LOHS (K.). — *Deut. gesundheitsw.*, 1960, 15, 2179.
84. Mc COMBIE (H.) et SAUNDERS (B. C.). — *Nature*, 1946, 157, 287-289.
85. MAGNUS (R.). — *Arch. ges. Physiol.*, 1904, 102, 123.
86. MARCHESANI (O.). — *Hamburger Aerzteblatt.*, 1948, 10, 217.
87. MAZUR (A.) et BODANSKY (O.). — *J. Biol. Chem.*, 1946, 163, 261-762.
88. MAZUR (A.) et BODANSKY (O.). — *Méd. Division Report*, n° 35, P.B. 9524.
89. MENDEL (B.) et RUDNEY (H.). — *Biochem. J.*, 1943, 37, 59-63.
90. MENDEL (B.), MUNDELL (D. B.) et RUDNEY (H.). — *Biochem. J.*, 1943, 37, 473-476.
91. MENDEL (B.) et MYERS (D. K.). — *Brit. J. Pharmacol.*, 1953, 8, 217.
92. MICHEL (H. O.). — *J. Lab. Clin. Méd.*, 1949, 34, 1564-1568.
93. MIKHEL'SON (M. Ya.). — *Khim. i primenenie fosfororg. Soedinenii, Akad. Nauk S.S.S.R.*, 1955 (Pub. 1957), 285-300.
94. MOUNTER (A.M.) *J. Biol. Chem.*, 1954, 209, 713.
95. NACHMANSOHN (D.) et MACHADO (A. L.). — *J. Neurophysiol.*, 1943, 6, 397-403.
96. NACHMANSOHN (D.) et ROTHENBERG (M. A.). — *Science*, 1944, 100, 454-455.
97. NACHMANSOHN (D.) et ROTHENBERG (M. A.). — *J. Biol. Chem.*, 1945, 158, 653-666.
98. NACHMANSOHN (D.) et WILSON (I. B.). — *Advances in Enzymol.*, 1951, 12, 259-339.
99. NACHMANSOHN (D.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1957, 39, 1021.
100. RAMON CEBRIAN (G.). — *Anales réal soc. espan. fis. y quim.*, Madrid, 1951, 47 B, 841-846.
101. RASUMOV (A. I.). — *Uspekhi Khim.*, 1957, 26, 975-991.

102. ROSIVAL (L.), VRBOVSKY (L.) et SELECKY. — *Toxicologia a Farmacodynamika Organofosforovych*, Bratislava, 1959.
103. SAUNDERS (B. C.) et STACEY (G. J.). — *J. Chem. Soc.*, 1948, 695-699.
104. SCHAUMANN (W.). — *Dt. Apotheker Ztg.*, 1955, 99, 1101.
105. SCHRADER (G.). — *B.I.O.S., Final Report*, 1947, 21, 1095.
106. SCHRADER (G.). — *B.I.O.S., Final Report*, 1947, 714, 52.
107. SCHRADER (G.). — *Monographie n° 62, zu Ang. Chem.*, 1951.
108. SMITH (M. I.), ELYOVE (E.) et FRAZIER (W. H.). — *U.S. Pub. Health Repts.*, 1930, 45, 2509-2524.
109. SMITH (M. I.), ELVOVE (E.), VALAER (P. J.), FRAZIER (W. H.) et MALLORY (G. E.). — *U.S. Pub. Health Repts.*, 1930, 45, 1703-1716.
110. SMITH (M. I.) et LILLIE (R. D.). — *Arch. Neurol. Psychiat.*, Chicago, 1931, 26, 976-992.
111. SMITH (M. I.), ENGEL (E. W.) et STOHLMAN (E. F.). — *U.S. Nat. Inst. Health Bull.*, 1932, n° 160.
112. STEDMAN (E.), STEDMAN (E.) et EASSON (L. H.). — *Biochem. J.*, 1932, 26, 2056-2066.
113. STEWART (W. C.). — *Brit. J. Pharmacol.*, 1952, 7, 270.
114. TAMMELIN (L. E.), STRINDBERG (B.). — *Acta Chem. Scand.*, 1952, 6, 1041-1047.
115. TAMMELIN (L. E.). — *Ark. kemi.*, 1958, 12, 287-298.
116. THOMAS (G.). — *Arch. belges Méd. soc., Hygiène Méd. trav. et Méd. légale*, 1960, 18, 489.
117. VERBECKER (R.) et VOTAVA (Z.). — *Arch. int. Pharmacodyn. Ther.*, 1949, 79, 367-380.
118. WILLIAMS (R. T.). — *Metabolism or organic compounds phosphorus Detoxication mechanisms*, 1959, 695-702.
119. WILSON (A.). — *Chemistry and Industry*, 1954, 651-653.
120. WILSON (I. B.). — *The Enzymes*, 1960, 5, 501-520.
121. WILSON (I. B.) et BERGMANN (F.). — *J. Biol. Chem.*, 1950, 185, 479.
122. WILSON (I. B.) et MEISLICH (E. K.). — *J. Am. Chem. Soc.*, 1953, 75, 4628-4629.
123. WINBURY (M. M.), SCHMALGEMEIR (D. M.), HAMBOURGER (W. E.). — *J. Pharmacology*, 1949, 95, 53-57.
124. WIRTH (W.). — *Arch. exp. Path. u Pharmacol.*, 1949, 207, 545.
125. WIRTH (W.). — *Deut. med. Wochschr.*, 1949, 41, 1243-1245.

TABLE DES MATIERES

1. INTRODUCTION.....	17-24
2. ÉTUDE CHIMIQUE	
Constitution	27
Préparation.....	28-30
Caractères physico-chimiques	31-32
Métabolisme	33-35
3. TOXICITÉ	
Généralités	39
Détermination de la toxicité	40-44
4. ACTION SUR LES CHOLINESTÉRASES	
Généralités	47-50
Action des organophosphorés sur les cholinestérases	51-56
Détermination de l'activité anticholinestérasique	57-67
Relations entre la toxicité <i>in vivo</i> et l'activité anticholinestérasique	68-69
Conséquences de l'inhibition des cholinestéras	70
5. ACTION SUR L'APPAREIL CARDIO-VASCULAIRE	
Pression artérielle du chien	73-85
Action sur le cœur isolé de grenouille.....	86-90
6. ACTION SUR LA FIBRE MUSCULAIRE STRIÉE	
Rectus abdominis	94-102
Action sur la transmission neuro-musculaire	103-109
7. ACTION SUR LA FIBRE MUSCULAIRE LISSE	
Action sur l'intestin isolé	113-116
Action sur l'œil	117-123
8. CONCLUSIONS.....	
9. INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.....	
	127-130
	133-136

Vu : *Le Doyen*,
Léon BINET

Vu : *Le Président du Jury*,
J. CHEYMOL

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
J. ROCHE



Achevé d'imprimer le 22 Octobre 1962.

Imprimerie de la Vieille Alsace - 7, passage Ricaut - PARIS 13°
Dépôt légal 3^e trimestre 1962

